

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
VANESSA REGINA OLSZEWSKI

**CRANBERRIES (*VACCINIUM MACROCARPON* AITON) NA NUTRIÇÃO DE CÃES:
INFLUÊNCIA NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE E NO CURSO DE
INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.**

CURITIBA

2017

VANESSA REGINA OLSZEWSKI

**CRANBERRIES (*VACCINIUM MACROCARPON* AITON) NA NUTRIÇÃO DE CÃES:
INFLUÊNCIA NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE E NO CURSO DE
INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, ofertado no Setor de Ciências Agrárias na Universidade Federal do Paraná, como um dos requisitos à obtenção de Título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ananda Portella Félix

Co-orientador: Prof. Dr. José Francisco G. Warth

CURITIBA

2017

“Você ganha forças, coragem e confiança a cada experiência em que você enfrenta o medo. Você tem que fazer exatamente aquilo que acha que não consegue. “.

Eleanor Roosevelt

Dedico:

*A Deus e a minha família: Kátia, Sérgio,
Jacqueline, Maria do Carmo, Alvino Pereira e
Josiane Moura Pereira.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela saúde que me foi dada, pela minha família e pela oportunidade de estudar e realizar todos os meus sonhos.

Agradeço a minha família por todo apoio sempre, por sempre me incentivarem a fazer melhor, estudar e batalhar cada vez mais pelos meus objetivos. Por me estimularem nos momentos difíceis, de dúvidas e questionamentos.

Agradeço a Prof^a. Dr^a. Ananda, minha orientadora pela oportunidade de cursar o mestrado e realizar um sonho antigo e ao Prof^o. Dr^o. José Francisco, pelo apoio e dedicação as análises e ao projeto. Agradeço por toda a paciência, ajuda, conselhos e orientações que foram dados ao longo desses anos e por me estimularem a melhorar sempre.

Agradeço a empresa Organnact pelo apoio financeiro ao projeto. Ao Dr. Bacila pela ajuda e incentivo com o tema e compra do material de estudo, a mestre e médica veterinária Adriana Dausen Meyer por me ajudar nos momentos de dúvida, por todas as oportunidades que me foram dadas e a médica veterinária Cristina Regner por toda ajuda e apoio.

Agradeço aos meus colegas da empresa Organnact que me estimularam, ajudaram e me derem força nos momentos de cansaço e sempre me ajudaram com as tarefas.

Agradeço aos meus amigos que sempre me incentivaram a fazer o mestrado e a continuar estudando, pelos momentos de alegria e distração e por todo apoio em diversos momentos.

Agradeço a todos do Laboratório de Estudos de Nutrição Canina (LENUCAN), especialmente a doutoranda Fabiane Murakami e a mestre Lidiane Domingues pelo auxílio com o meu projeto. Sem essa ajuda, não conseguiria trabalhar e dar sequência ao projeto ao mesmo tempo. Agradeço também por todas as tabelas, modelos de relatório e toda a paciência em sanar as minhas inúmeras dúvidas.

Agradeço ao médico veterinário Leonardo Gaspareto dos Santos e a médica veterinária e mestranda em ciências veterinária Carolina Trochmann por me ajudarem na coleta de urina dos cães.

A Alexandra Russi, a qual me ajudou com a parte estatística do projeto com a maior paciência, calma e muita alegria.

Ao meu cachorro Toby por ter sido meu companheiro por tantos anos e ao meu coelho Francisco pela companhia durante as incontáveis madrugadas estudando.

Aos cães do LENUCAN: por terem sido meus companheiros por tantas manhãs e tardes e por me fazerem dar gargalhadas em momentos difíceis.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação ZOOTECNIA

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **VANESSA REGINA OLSZEWSKI** intitulada: **"CRANBERRIES (VACCINIUM MACROCARPON AITON) NA NUTRIÇÃO DE CÃES: INFLUÊNCIA NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE E NO CURSO DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO"**., após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação.

Curitiba, 29 de Março de 2017.


ANANDA PORTELLA FÉLIX

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


ALEX MAIORKA

Avaliador Interno (UFPR)


JOSÉ SIDNEY FLEMMING

Avaliador Externo (-)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 069/2015, referente ao projeto **“Cranberries na nutrição de cães: saúde do trato urinário, digestibilidade e palatabilidade da dieta”**, sob a responsabilidade de **Ananda Portella Félix** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau B de invasividade, em reunião de 01/10/2015


Vigência do projeto	Fevereiro a Março de 2016
Espécie/Linhagem	Cães
Número de animais	15
Peso/Idade	12 kg/12 meses
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	LENUCAN – UFPR

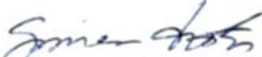
CERTIFICATE

We certify that the protocol number 069/2015, regarding the project **“Cranberries in dog nutrition: urinary tract health, diet digestibility and palatability”**, under **Ananda Portella Félix** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree B of invasiveness, in session of 10/01/2015.

Duration of the project	February to March 2016
Specie/Line	Dogs
Number of animals	15
Weight/Age	12 kg / 12 months
Sex	Males and females
Origin	LENUCAN – UFPR

Curitiba, 01 de Outubro de 2015.


Ananda Portella Félix
Presidente CEUA-SCA


Simone Tostes de Oliveira Stedile
Vice-Presidente CEUA-SCA

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xi
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Cranberry.....	14
2.1.1 Propriedades terapêuticas da cranberry.....	14
2.1.2 Acidificante presente na cranberry e importância sobre o sistema gastrointestinal.....	16
2.2 Cranberry e infecção do trato urinário em cães.....	17
2.2.1 Características morfológicas de <i>E.coli</i>	19
2.2.2 Patogenicidade.....	19
2.3 Teste de hemaglutinação.....	20
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO II CRANBERRY (VACCINIUM MACROCARPON AITON) NA NUTRIÇÃO DE CÃES: INFLUÊNCIA NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE E NO CURSO DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.....	29
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
1.INTRODUÇÃO.....	31
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	32
2.1 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA E URINÁRIA.....	32
2.1.1 Animais e instalações	32
2.1.2 Dietas experimentais e manejo alimentar	32
2.1.3 Urinálise	33
2.1.4 Parâmetros sanguíneos	33
2.1.5 Análise estatística	34
2.2 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS.....	34
2.2.1 Dietas experimentais, animais e instalações.....	34
2.2.2 Protocolo experimental e análises laboratoriais.....	34
2.2.3 Delineamento e análise estatística.....	35
2.3 ENSAIO DE PALATABILIDADE.....	35
2.3.1 Dietas experimentais.....	35
2.3.2 Animais e instalações.....	36
2.3.3 Procedimentos experimentais.....	36
2.3.4 Delineamento e análises estatísticas.....	36

2.4 INFLUÊNCIA DA CRANBERRY SOBRE ISOLADOS DE E.COLI CLASSIFICADOS COMO UPEC- HAMR.....	36
2.4.1 Escolhas de cepas HAMR. (Escherichia coli Manose resistente)	36
2.4.2 Confirmação da expressão de adesinas fimbriais.....	37
2.4.3 Preparo da solução mãe de Cranberry a 25%.....	37
2.4.4 Influência de extrato de cranberry sobre isolados de E.coli UPEC HAMR.....	37
2.4.5 Obtenção do crescimento bacteriano em meio 1, 2, 3, 4, 5 3 6.....	37
2.5.6 Técnica de hemaglutinação lâmina de microscopia.....	37
3. RESULTADOS.....	38
3.1 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA E URINÁRIA.....	38
3.2 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS.....	40
3.3 ENSAIO DE PALATABILIDADE.....	41
3.4 INFLUÊNCIA DA CRANBERRY SOBRE ISOLADOS DE E.COLI CLASSIFICADOS COMO UPEC-HAMR.....	41
4. DISCUSSÃO	42
4.1 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA E URINÁRIA	42
4.2 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS.....	44
4.3 ENSAIO DE PALATABILIDADE.....	46
4.4 INFLUÊNCIA DA CRANBERRY SOBRE ISOLADOS DE E.COLI CLASSIFICADOS COMO UPEC- HAMR.....	47
5. CONCLUSÃO	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS GERAIS.....	52

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – EFEITOS DA CRANBERRY SOBRE PARÂMETROS URINÁRIOS E SANGUÍNEOS, NA DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DE DIETAS PARA CÃES.

Tabela 1- Composição química analisada das dietas experimentais (% da matéria seca).

Tabela 2 – Médias dos parâmetros sanguíneos de cães alimentados com dietas sem e com cranberry.

Tabela 3 – Medianas e percentis (p25; p75) das variáveis da urinálise de cães que consumiram ou não a cranberry.

Tabela 4 - Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA %) e energia metabolizável (EM kcal/kg) de dietas com e sem cranberry e matéria seca fecal (MSf, %) de cães.

Tabela 5 - Medianas da amônia (NH₃), pH e escore fecal de cães alimentados com dietas contendo ou não cranberry.

Tabela 6 - Razão de ingestão (RI, média \pm erro padrão) das dietas sem (A) e com cranberry (B) em cães.

Tabela 7- Expressão de amostras de *E.coli* UPEC-HAMR isoladas de cães pelo teste de hemaglutinação.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDA - Coeficiente de Digestibilidade Aparente

EB - Energia Bruta

E. coli - Escherichia Coli

EC- cepas de *E.coli* referência

EM - Energia Metabolizável

g- Grama

Ht – Hematócrito

Hb – Hemoglobina

Kg – Quilograma

LABMICRO – Laboratório de Microbiologia

MO - Matéria Orgânica

HAMR- Cepas hemaglutinação Manose Resistente

MS - Matéria Seca

MSf- Matéria Seca Fecal

MSHA – Manose sensíveis

NEM - Necessidade de Energia Metabolizável

NH₃- Nitrogênio amoniacal

PB - Proteína Bruta

pH – Potencial hidrogeniônico

ITU – Infecção do trato urinário

VCM – Volume globular médio

TGI – Trato Gastrointestinal

CRANBERRIES (*VACCINIUM MACROCARPON* AITON) NA NUTRIÇÃO DE CÃES: INFLUÊNCIA NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE E NO CURSO DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.

RESUMO

Uma das frutas nativas cultivadas na América do Norte, a cranberry, tem se destacado no mercado mundial por suas propriedades terapêuticas. A cranberry é capaz de prevenir infecções de origem bacteriana como, por exemplo, a infecção do trato urinário. Objetivou-se avaliar o efeito da cranberry nos parâmetros sanguíneos e urinários, na digestibilidade e palatabilidade da dieta em cães, bem como na possível influência na formação de fímbrias de *E.coli* UPEC-HAMR em testes *in vitro*. Foram utilizados 10 cães da raça Beagle, os quais foram alimentados durante 30 dias com as dietas contendo 0% ou 0,4% de cranberry (n=5). Sangue e urina foram coletados nos dias 0º e no 31º. Para a análise de digestibilidade das dietas, foi coletada a quantidade total das fezes produzidas por cada cão entre os dias 25º a 31º. Foram utilizados 16 cães adultos Beagles para o teste de palatabilidade, que comparou a razão de ingestão entre as dietas com 0% e 0,4% de cranberry. Para análise da formação de fímbrias de *E.coli* UPEC-HAMR *in vitro*, foram utilizadas duas cepas cultivadas em seis meios diferentes. Nos parâmetros sanguíneos avaliados (hemograma, eritrograma, leucograma e plaquetograma), não foram observadas variações estatísticas ($P>0,05$). Os cães alimentados com cranberry apresentaram urina com coloração e aspecto mais claros após 30 dias de alimentação, em relação ao período controle (dia 0) e aos cães alimentados sem cranberry ($P<0,05$). A dieta contendo cranberry apresentou maior digestibilidade da matéria seca, orgânica e do extrato etéreo, maior energia metabolizável que a dieta controle ($P<0,05$) e reduziu a produção de ácido siálico ($P<0,05$). Não houve alteração das características fecais dos cães ($P>0,05$) e não houve influência da cranberry na formação de fímbrias de *E.coli* UPEC-HAMR. Houve menor razão de ingestão da dieta contendo cranberry ($P<0,05$). Pode-se concluir que a cranberry aumenta a digestibilidade dos nutrientes, melhora a saúde intestinal e influencia na coloração e aspecto da urina. Entretanto, reduz a palatabilidade da dieta para cães e não altera a capacidade de adesão de *E.coli* UPEC-HAMR.

Palavras-chave: Infecção urinária, mirtilo-vermelho, oxicoco.

CRANBERRIES (*VACCINIUM MACROCARPON* AITON) IN DOG NUTRITION: INFLUENCE ON DIGESTIBILITY, PALATABILITY AND IN THE COURSE OF URINARY TRACT INFECTIONS.

ABSTRACT

One of the native fruits grown in North America, cranberry, has stood out in the world market for its therapeutic properties. Cranberry is able to prevent infections of bacterial origin such as urinary tract infection. The objective of this study was to evaluate the effect of cranberry on blood and urinary parameters, on the digestibility and palatability of the diet in dogs, as well as on the possible influence of *E.coli* UPEC-MRHA fimbriae in in vitro tests. Ten Beagle dogs were fed, which were fed for 30 days with diets containing 0% or 0.4% cranberry ($n = 5$). Blood and urine were collected on days 0 and 31. For the analysis of digestibility of diets, the total amount of feces produced by each dog between 25^o and 31^o days was collected. Sixteen Beagles adult dogs were used for the palatability test, which compared the intake ratio between the 0% and 0.4% cranberry diets. To analyze the formation of *E. coli* UPEC-MRHA fimbriae in vitro, two strains cultivated in six different media were used. In the evaluated blood parameters (hemogram, erythrogram, leukogram and platelet), no statistical variations were observed ($P > 0.05$). The cranberry-fed dogs presented lighter color and appearance of urine after 30 days of feeding compared to the control period (day 0) and to dogs fed without cranberry ($P < 0.05$). The diet containing cranberry showed higher digestibility of dry matter, organic matter and ethereal extract, higher metabolizable energy than control diet ($P < 0.05$) and reduced production of sialic acid ($P < 0.05$). There was no change in the faecal characteristics of the dogs ($P > 0.05$) and there was no influence of cranberry on the formation of fimbriae of *E.coli* UPEC-MRHA. There was a lower intake rate of the diet containing cranberry ($P < 0.05$). It can be concluded that cranberry increases the digestibility of nutrients, improves intestinal health and influences the color and appearance of urine. However, it reduces the palatability of the diet for dogs and does not alter the adhesion capacity of *E.coli* UPEC-MRHA

Key words: Urinary infection, blueberry-red, cranberry.

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO.

O uso da fitoterapia é uma prática antiga em todo o mundo (NASCIMENTO et al., 2000), pois várias substâncias naturais têm demonstrado diferentes ações farmacológicas importantes, como a atividade antibacteriana (MENDES et al., 2011).

O *Vaccinium macrocarpon* aiton, também conhecida como cranberry, é uma planta nativa do hemisfério norte e reconhecida pelos seus efeitos terapêuticos (ROSSI et al., 2010). Em sua composição, podemos encontrar por exemplo componentes como as antocianidinas, as quais agem sobre as células bacterianas rompendo a membrana citoplasmática e inibindo a atividade enzimática (DOUGHARI et al., 2008; GONDIM et al., 2011), as proantocianidinas tipo A, as quais apresentam capacidade de inibição da adesão bacteriana ao trato urinário reduzindo dessa forma o risco de infecção, além de catequinas e ácidos orgânicos como ácido cítrico, málico, quínico, benzoico e glicurônico, vitamina C e água (RAZ et al., 2004).

Diversos produtos à base de cranberry estão sendo utilizados e estudados com fins terapêuticos e profiláticos para seres humanos (WU et al., 2008; MCMURDO et al., 2009) e devido a comprovação científica da eficácia desta fruta na prevenção e auxílio ao tratamento de infecções do trato urinário em seres humanos (AVORN et al., 1994), pesquisas sobre a ação e efeitos desta fruta quando fornecida aos animais tem aumentado (MAZUTTI et al., 2012; OLBY et al., 2017).

Não foram encontrados estudos sobre se a inclusão da cranberry na dieta de cães afeta parâmetros sanguíneos, a digestibilidade e a palatabilidade se usada junto à ração de cães, porém estudos recentes realizados com a inclusão da cranberry na dieta de animais predispostos a desenvolverem a infecção do trato urinário, não demonstraram benefício da cranberry na saúde do trato urinário destes. Porém estudos *in vitro* comprovam a importância da PAC tipo A, presente na cranberry, na prevenção da aderência de bactérias uropatogênicas (UPEC) (OLBY et al., 2017).

Assim, o objetivo deste estudo será dar ênfase as propriedades da cranberry e se esta exerce influência sobre as bactérias *Escherichia coli* UPEC em teste *in vitro*, nos parâmetros sanguíneos e urinários, na palatabilidade e digestibilidade da dieta em cães.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cranberry

A cranberry americana, também conhecida como mirtilo-vermelho, oxicoco ou uva do monte é uma planta nativa da América do Norte, pertencente à família *Ericaceae* e ao gênero *Vaccinium macrocarpon* aiton (FONSECA et al., 2007). Seu nome é derivado do termo “Crane Berry”, apelido para a flor de mirtilo, que quando murcha se torna similar à aparência de um pássaro que se alimenta dos frutos desta planta, chamado Crane (FRANÇA et al., 2014).

Sua história data de centenas de anos. Por volta de 1620, os nativos americanos misturavam carne de alce com uma pasta elaborada com a fruta para conservar o alimento por um longo período, além de usarem o suco vermelho como tinta natural na coloração de tapetes, cobertores e roupas. Também acreditavam em suas propriedades antissépticas, pois utilizavam a cranberry em ferimentos causados por flechas indígenas venenosas (WINSTON et al., 2002; FRANÇA et al., 2014).

Esta fruta contém flavonoides, antocianidinas, proantocionidinas (PAC), catequinas e ácidos orgânicos como ácido cítrico, málico, quínico, benzoico e glicurônico (RAZ et al., 2004), além de vitamina C e água (FRANÇA et al., 2014).

A cranberry é uma fruta de gosto amargo (FRANÇA et al., 2014) e forte. O suco concentrado desta fruta é ácido, com pH de 2,5 e quase impalatável para humanos quando não misturado a outros componentes como adoçantes, vitamina C ou diluído em água (RAZ et al., 2004).

2.1.1 Propriedades terapêuticas da cranberry

Diversos produtos à base de cranberry estão sendo utilizados e estudados com fins terapêuticos e profiláticos para seres humanos e animais (WU et al., 2008; MCMURDO et al., 2009). Porém muito ainda precisa ser esclarecido sobre as ações e os efeitos interativos destes produtos quando utilizados junto a outras substâncias, como drogas antimicrobianas (CATÃO et al., 2014).

São atribuídas a cranberry diversas ações terapêuticas. Howell (1998) cita que os componentes formadores da cranberry, uma vez absorvidos na corrente sanguínea, ficam vulneráveis a outros locais do corpo e também podem funcionar como antioxidantes, por exemplo. As antocianidinas e as proantocianidinas são exemplos de substâncias antioxidantes e estão presentes na composição da cranberry. Os flavonoides, como as antocianidinas, são capazes de agir sobre as células bacterianas,

rompendo a membrana citoplasmática e inibindo a atividade enzimática (DOUGHARI et al., 2008).

Os antioxidantes presentes na cranberry tem ainda a capacidade de se ligar a lipoproteína de baixa densidade (*Low density lipoprotein* - LDL) e as proteger da oxidação, além de aumentar a sua capacidade antioxidante no plasma e aumentar os níveis de HDL (*High density lipoprotein*) (SCHIDFAR et al., 2012).

Estudos *in vitro* têm revelado também que as proantocianidinas (PAC) do Tipo A, únicas encontradas na cranberry, são responsáveis por impedir que bactérias com presença de fimbrias tipo 1 e tipo P se fixem às células, podendo o contato com a cranberry ocasionar a bactérias, como *Escherichia coli* (*E.coli*) uropatogênicas (UPEC), a perda de fimbrias (AHUJA et al., 1998), impedindo que estas se proliferem e causem infecções como a infecção do trato urinário (ITU) e sejam conseqüentemente, eliminadas do organismo (O'MAY & TUFENKJI, 2011; BROW et al., 2011).

As proantocianidinas (PAC) são consideradas ainda anti-inflamatórias, antialérgicas, são vasodilatadoras, cardioprotetoras, imunoestimulante, antivirais e inibidoras do estresse oxidativo celular e da carcinogênese química induzida (DÉZIEL et al., 2010), inibindo enzimas envolvidas na proliferação de células cancerígenas em seres humanos, interferindo na expressão e no número de genes necessários para que as células cresçam e sejam capazes de ativar a especificidade apoptótica de proteínas que iniciam a morte celular (NARAYANAN et al., 1999, NARAYANAN et al., 2001, NARAYANAN et al., 2002).

Estudos em seres humanos demonstraram que a cranberry, além de ser capaz de impedir a aderência da *E.coli* nas células epiteliais superficiais da bexiga, também pode evitar a adesão de bactérias como *Candida spp.* e leveduras como *C. glabrata* na dentina de seres humanos e possui ação antibiofilme contra a *C. albicans*, evitando assim a formação de placas dentárias (HOWELL, 1998; DE-LEÓN-JAÉN et al., 2009, MAZUTTI et al, 2012, FRANCA et al., 2014; TAGLIANI, 2015).

Em estudos com suínos, foi observado que a mesma foi capaz de aumentar a acidez urinária, porém não foi eficaz no tratamento de ITU, não sendo eficaz como única forma de tratamento a doença (MAZUTTI et al., 2012).

Um estudo realizado com grupos controle e grupo teste de cães diagnosticados com hérnia de disco e apresentando dificuldades para urinar, demonstrou que a cranberry não auxiliou na prevenção e tratamento da ITU, porém os autores indicam que maiores estudos com casos similares são necessários para que seja determinada a quantidade

de extrato de cranberry e concentração de PAC que deve ser fornecida a cães, além do tempo de fornecimento para se observar um resultado nesses animais (OLBY et al., 2017).

2.1.2. Acidificante presente na cranberry e importância sobre o sistema gastrointestinal

Pesquisadores alemães observaram em 1880 que após a ingestão da fruta cranberry por seres humanos, a acidez da urina era maior (RAZ et al., 2004).

Os acidificantes presentes nas frutas não possuem efeito terapêutico em infecções de origem bacteriana, como a ITU, mas são recomendados para inibir o crescimento de bactérias patogênicas, além de estimularem maior consumo de água e aumentar a capacidade absorptiva das células intestinais (KOLLER et al., 2006).

O ácido benzoico, presente na cranberry, é o mais importante ácido carboxílico aromático. Este ácido foi obtido pela primeira vez no começo do século XVII (GHELER et al., 2009) e segundo Mroz (2005), este é capaz de alterar o pH da urina de forma transitória, além de reduzir a emissão de amônia e aumentar a digestibilidade de aminoácidos e nitrogênio.

Seus efeitos antibacterianos são especialmente contra bactérias Gram-negativas como a *E. coli*, *Clostridium sp* e *Salmonella spp*. O ácido benzoico também é responsável por estimular o crescimento de microrganismos benéficos, como *Lactobacillus* e Bifidobactérias (SILVA JR. et al., 2009).

Quando ingerido pelos animais, o ácido benzoico é absorvido no intestino delgado e, em seguida, transportado para o fígado, onde é convertido em ácido hipúrico e eliminado pela urina. (AVORN et al., 1994; GALASSI et al., 2011).

Já é sabido que a superfície absorptiva do trato gastrointestinal (TGI) é coberta por uma camada de muco, a qual é composta predominantemente por glicoproteínas sintetizadas e secretadas pelas células caliciformes e está diretamente relacionada à capacidade de absorção dos nutrientes dispostos no intestino. Essa substância é produzida na mucosa intestinal e liberada no lúmen intestinal quando a parede do trato é danificada e está na maioria das vezes associada à produção de mucina (JOURDIAN et al., 1971).

As mucinas intestinais são compostas por uma fração proteica (1.500 a 4.500 aminoácidos) e por uma fração de carboidratos, composta por galactose, fucose, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina e ácido siálico (JEURISSEN et al., 2002; KOUTSOS & ARIAS, 2006).

O termo ácido siálico é utilizado para definir uma família de monossacarídeos encontrados nas extremidades terminais de cadeias de açúcares, os quais estão ligados a superfície das células e às glicoproteínas solúveis (ANGATA & VARKI, 2002). Os ácidos siálicos estão envolvidos em muitas funções fisiológicas e contribuem para adesão celular, inibição enzimática, ação hormonal, indicador de perdas endógenas do trato gastrointestinal (TGI), entre outros e deve ser mensurado a fim de avaliar qual o impacto dos nutrientes no TGI dos animais, pois a produção deste junto ao muco está associado a um mecanismo de defesa, tamponamento e lubrificação do trato em situações adversas (JOURDIAN et al., 1971).

Não foram encontrados na literatura referências sobre a eliminação fecal de ácido siálico em cães alimentados com dietas contendo cranberry.

2.2 Cranberry e infecção do trato urinário em cães

O trato urinário inferior é responsável pelo armazenamento e liberação periódico da urina, tanto em humanos quanto em animais (VACONCELLOS, 2012). Caracteriza-se por ser um ambiente usualmente estéril, com exceção da uretra distal, que apresenta naturalmente colonização microbiana (OSUGUI, 2008, CARVALHO et al., 2014).

Um dos principais mecanismos de defesa do organismo à colonização de microrganismos patogênicos é a própria eliminação da urina, que funciona como uma lavagem do trato urinário inferior e garante que 95% das bactérias sejam eliminadas do trato urinário. O pH ácido da urina também possui influência na defesa da vesícula urinária, evitando assim a multiplicação e a aderência bacteriana (LANGONI et al., 1996).

As ITU são definidas por colonização microbiana do epitélio estratificado do trato urinário e acometem cerca de 14% da população canina (FURINI et al., 2013). Esta pode acometer tanto o trato urinário inferior (mucosa uretral e vesícula urinaria), como superior (pelve renal, túbulos contorcidos e dutos coletores do rim), sendo denominadas como infecção baixa e alta, respectivamente (BARSANTI, 2006, VASCONCELLOS, 2012). As fêmeas são mais acometidas que os machos e isto se deve a anatomia do trato geniturinário e a proximidade do ânus com as genitálias ou vias urinárias das fêmeas, favorecendo a infecção (FURINI et al., 2013).

Os microrganismos causadores das ITU atingem o trato urinário por diversas vias, como a hematógena, a linfática ou através da via ascendente, sendo esta a via mais comum e, neste caso, os microrganismos derivam da uretra distal. Estes também podem

ser derivados da extensão de infecções que ocorreram em outros tecidos ou originários da microbiota intestinal (BUSH, 1976).

A contaminação do trato pode ser causada tanto por bactérias Gram positivas como negativas, por leveduras como *Candida* spp (PRESSLER et al., 2003; BALL et al., 2008) e fungos (*Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., *Torulopsis* spp., *Blastomyces* spp., *Trichosporon* spp., *Histoplasma* spp., e *Rhodotorula* spp) (PRESSLER et al., 2003; JIN & LIN, 2005). Ainda, segundo Jang (1984), a infecção também pode ser causada por vírus, algas e pela bactéria *Mycoplasma* spp. Processos estéreis como urolitíase e neoplasia do trato urinário também podem ser a causa da ITU.

Em 75% dos casos a doença tem como etiologia as bactérias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Proteus* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp. e *Enterobacter* spp.) (SEGUIN et al., 2003, BARSANTI, 2006, SENIOR, 2011), sendo a *Escherichia coli* (*E. coli*) o principal agente causador com predominância em 40 a 70% dos casos de ITU em cães (SIQUEIRA et al., 2006; BALL et al., 2008; VASCONCELLOS, 2012; CARVALHO et al., 2014).

Os sinais clínicos apresentados por animais acometidos por ITU são: disúria e polaquiúria (WEESE et al., 2011) e o diagnóstico é realizado em bases clínicas e laboratoriais por meio da urinálise e exame de sangue para identificação de mediadores inflamatórios e aumento da concentração sanguínea de ureia e creatinina em casos de comprometimento dos rins (RECHE et al., 2005; CARVALHAL et al. 2006; MAZUTTI, 2012). Nos casos complicados, é necessário realizar ultrassonografia, permitindo a visualização adequada da parede e do conteúdo do órgão avaliado (VASCONCELLOS, 2012).

O tratamento é realizado com Penicilinas (penicilina G e amoxicilina), Cefalosporinas (cefalexina, cefotaxima, ceftiofur) ou Fluorquinolonas (ciprofloxacina e enrofloxacina), sendo as Fluorquinolonas as mais utilizadas nas ITU, devido ao seu amplo espectro (FURINI et al., 2013). Porém, a atividade antimicrobiana é motivo de inúmeros estudos, devido ao aumento da resistência bacteriana às drogas antimicrobianas convencionais (SCHELZ & HOHMANN, 2006). Também já foi verificado, em estudos anteriores, que o uso associado de plantas medicinais ou dos seus compostos derivados pode interferir, intensificando o efeito terapêutico dos antimicrobianos convencionais (NASCIMENTO et al., 2000; ZAGO et al., 2009). Por este motivo, o consumo da cranberry por seres humanos tem aumentado (AVORN et al., 1994).

2.2.1. Características morfológicas de *E.coli*

O gênero *Escherichia*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, compreende as espécies *E. coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* e *E. vulneris*. No entanto, a principal espécie é a *E. coli*, um bastonete curto, Gram-negativo, não esporulado, medindo entre 1,1 a 1,5 μm por 2 a 6 μm , sendo a maioria é móvel devido a existência de flagelos peritríquios, em que múltiplos flagelos são distribuídos aleatoriamente na superfície da célula (KEARNS & LOSICK, 2003; MERINO et al., 2006). A temperatura ótima para o seu crescimento é por volta dos 37 °C (BARNES et al. 2003; OLIVEIRA et al., 2004; QUINN et al., 2005).

Apresenta metabolismo anaeróbico facultativo, pois possui metabolismo respiratório e fermentativo, sendo capaz de fermentar, com produção de ácido e gás a lactose, glicose, maltose, manose, manitol, xilose, glicerol, ramanose, sorbitol e arabinose (QUINN et al., 2005; ANDREATTI FILHO, 2007).

A *E.coli* foi considerada, por algum tempo, como um habitante comensal da microbiota entérica. Essa visão mudou ao se reconhecerem diversas patologias entéricas e extra intestinais causadas por sorotipos de *E. coli* (SAIDENBERG, 2008; BERCHIERI JUNIOR et al., 2009).

Esta bactéria pode ser classificada em patotipos, como: enteropatogênica (EPEC), enterotoxigênica (ETEC), enteroinvasora (EIEC), 4 enterohemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EaggEC), de meningite neonatal (NMEC); enteropatogênica para coelhos (REDEC), patogênica para aves (APEC) e uropatogênicas (UPEC) (FERREIRA & KNÖBL, 2009).

As *E.coli* classificadas uropatogênicas (UPEC – “Uropathogenic *Escherichia coli*”), são responsáveis por manifestações clínicas extra intestinais, como a ITU (KAPER et al, 2004; GREENE, 2006) e piometra em cães (NELSON & FELDMAN, 1986; NELSON & COUTO, 2003; KAPER et al., 2004; GREENE, 2006).

2.2.2. Patogenicidade

As características que tornam determinadas bactérias patogênicas, como a *E.coli* são denominadas de fatores de virulência (MUNDY et al, 2000). O termo fator de virulência é impreciso, pois um único componente pode não ser suficiente para transformar uma cepa de *E. coli* em patogênica, mas a combinação de vários fatores com outros determinantes de virulência tem um papel decisivo para a patogenicidade da

E.coli (KUHNERT et al., 2000; ROCHA, 2008). A aderência da bactéria ao epitélio do trato urinário é um destes fatores que auxiliam na sobrevivência desta ao meio, prevenindo que o fluxo de urina carregue estes microrganismos para o exterior da vesícula urinária, sendo a presença de antígenos fimbriais os responsáveis pela adesão de bactérias as superfícies (SHARON & LIS, 1993; NELSON & COUTO, 2003).

Os antígenos fimbriais “F” são denominados adesinas, pili ou fímbrias. Estes recobrem a superfície bacteriana e são moléculas proteicas capazes de reconhecer receptores específicos na superfície de células eucarióticas. A expressão deste fator de virulência é imprescindível no processo de aderência e colonização dos tecidos do hospedeiro, sendo proteínas estruturadas por vários filamentos interligados. Se o diâmetro for suficientemente largo, estes são chamados de fímbrias ou pilis enquanto que filamentos finos são denominados de fibrils (BARCELOS, 2005).

Fímbrias e adesinas tem sido classificadas de acordo com a sua morfologia, pela sua capacidade de aglutinar eritrócitos de variadas espécies de animais e por sua sorologia. Além disso, podem ser caracterizadas também pela sua composição química, sequência de aminoácidos ou por quais receptores estas se aderem (KLEMM, 2000).

Em bactérias uropatogênicas (UPEC), já foram descritas presença de adesinas fimbriais do tipo curli, tipo 1, P, S (MARQUES, 2011). As fímbrias tipo 1 são formadas por uma estrutura helicoidal de repetidas subunidades de proteína estrutural FimA. Este tipo de fímbria promove a adesão inicial da *E.coli* ao substrato, sendo ele inerte ou celular (TENG et al., 2005) e possui um sitio de ligação a D-manose, ligando-se facilmente a este carboidrato na membrana plasmática das células eucarióticas, sendo responsável ainda pela formação de biofilmes (SCHEMBRI et al., 2003).

Também são encontrados receptores para estas fímbrias nos eritrócitos, células do epitélio bucal, intestinal e vaginal, músculos e parede de vasos. Nos rins, são encontrados receptores para esta fímbria nos túbulos proximais e parede dos vasos, e na vesícula urinária são encontrados receptores nas camadas musculares e paredes de vasos (JOHNSON, 1991).

A expressão de determinadas fímbrias em experimentos *in vitro* podem ser determinadas conforme o pH, osmolaridade do meio, a aeração e a temperatura de cultivo (GAASTRA & GRAAF, 1982). Porém, a temperatura não interfere na capacidade hemaglutinante da fímbria tipo 1, diferindo das fímbrias tipo HAMR que têm a atividade hemaglutinante melhor demonstrada a 4°C (JOHNSON, 1991).

As fimbrias “curli” são apêndices proteicos finos e encaracolados, encontrados na superfície celular de *E. coli* e *Salmonella* sp. Já é sabido que a proteína curli é capaz de aderir a diferentes proteínas da matriz celular e do plasma e que a sua expressão sofre redução quando em temperatura superior a 30°C e alta osmolaridade (OLSEN et al., 1993).

Estas fimbrias são responsáveis pela ligação da bactéria à matriz extracelular, favorecendo a sobrevivência das bactérias em ambientes externos aos hospedeiros, assim como em sua colonização inicial (CAMPOS, 2006).

A fimbria tipo P teve a sua origem no seu receptor, que faz parte do antígeno do grupo sanguíneo P. Estruturalmente, é composta por um extenso polímero, constituído por quatro subunidades proteicas. Conhecida como uma adesina manose resistente a hemaglutinação, representa um fator de virulência característico de cepas causadoras de pielonefrite (LATHAM et al, 1984).

E as fimbrias tipo S tem demonstrado a capacidade de ligar-se ao endotélio vascular de grandes vasos nos rins, endotélio capilar do interstício e epitélio dos glomérulos, ligando-se ao ácido siálico presente nas glicoproteínas sializadas e glicolipídeos das células do hospedeiro, auxiliando na disseminação da bactéria (KORHONEN et al, 1988).

2.3 Teste de hemaglutinação

Para a identificação de *E.coli* com presença de fimbrias, o teste de hemaglutinação é um método sensível e fácil de ser realizado, o qual é executado quando há interesse em confirmar a presença de fimbrias nas bactérias analisadas e diferenciação sorológica destas (GILLES & DUGUID, 1958).

Segundo Morris (1983), baseado na atividade hemoaglutinante das bactérias, as fimbrias encontradas nas cepas de *E.coli* foram classificadas como: fimbrias não hemaglutinantes, fimbrias que têm a sua aglutinação com eritrócitos inibida pela D-manose, designadas estas como manose-sensíveis (HAMS) ou fimbria tipo 1, as quais são encontradas em *E. coli* de origem fecal e urinária, *Klebsiella*, *Shigella* spp, *Salmonella*, *Citrobacter* spp, *Enterobacter*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Serratia*, *Providencia* spp, *Erwinia* (CLEGG & GERLACH, 1987; JOHNSON, 1991) e aglutinam eritrócitos de diferentes espécies de animais; e as fimbrias que não tem a hemaglutinação inibida pela manose, chamadas manose resistente (HAMR) (CLEGG & GERLACH, 1987).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cranberry é uma fruta com grande potencial medicinal, com efeitos preventivos contra a infecção urinária comprovados em seres humanos. Porém é importante que sejam realizados mais estudos para detalhar ainda mais seus efeitos em animais, qual a quantidade e tempo mínimo que se deve fornecer a cranberry para que se possa observar a sua eficácia em cães por exemplo, se esta é benéfica para no auxílio ao tratamento ou prevenção de outras doenças, assim como são necessários maiores estudos sobre seus componentes, como as Proantocianidinas, as quais podem impedir a adesão de bactérias, prevenindo o desenvolvimento de infecções assim como podem melhorar a saúde intestinal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P.N. & SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3. ed. **Washington: Organización Panamericana de La Salud**, 2001.
- AHUJA. S, KAACK, M.B, ROBERTS, J.A. Loss of fimbrial adhesion with the addition of *Vaccinium macrocarpon* to the growth medium of P-fimbriated *Escherichia coli*. **J Urol** 159:559–562, 1998.
- ANDREATTI FILHO, L. R. Saúde aviária e doenças. São Paulo: **Roca**, vol. 10, p. 112-117, 2007.
- ANGATA, T & VARKI, A. Chemical Diversity in the Sialic Acids and Related α -Keto Acids: An Evolutionary Perspective, **Chem. Rev.**, 102, 439–469, 2002.
- AVORN, J.; MONANE, M.; GURWITZ, J.H.; GLYNN, R.J.; CHOODNOVSKIY, I.; LIPSITZ, L.A. Reduction of bacteriuria and pyuria after ingestion of cranberry juice. **JAMA** ; 271:751-754, 1994.
- BALL, K.R.; RUBIN, J.E.; CHIRINO- TREJO, M.; DOWLING, P.M. Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, **Can. Vet. J.**, v. 49, p. 985–90, 2008.
- BARCELOS, A. S. Avaliação macroscópica, histopatológica e bacteriológica de fígados de frangos (*Gallus gallus*) condenados no abate pela inspeção sanitária. 83 f. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacillosis In: SAIF W. M. **Diseases of poultry**. (11ª ed.). Iowa, p. 138-144, 2003.
- BARSANTI, J. A. Genitourinary infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. St Louis, Missouri: Saunders/Elsevier, p.935-961, 2006.

BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. Doenças das aves. Campinas: **FACTA**, p.455-469. 2009

BROW, P.N.; SHIPLEY, P.R. Determination of Anthocyanins in Cranberry Fruit and Cranberry Fruit products by High Performance Liquid chromatography with Ultraviolet Detection: Single-Laboratory Validation. **JAOAC**, v.94, n.2, p.459-466, 2011.

BUSH, B.M. A review of the etiology and consequences of urinary tract infections in the dog, **British Veterinary Journal**, v. 132, n. 6, p.632, 1976.

CAMPOS, T. A. Caracterização clonal e biológica de linhagens de *Escherichia coli* de origem aviária, 125 f. Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

CARVALHAL, G.F., ROCHA, L.C.A., MONTI, P.R. Urocultura e exame comum de urina: considerações sobre sua coleta e interpretação, **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, 50 (1): 59-62, jan.-mar. 2006.

CARVALHO, V.M.; SPINOLA, T.; TAVOLARI, F; IRINO, K.; OLIVEIRA, R.M., RAMOS, M.C.C., Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência aos antimicrobianos; **Pesq. Vet. Bras.** 34(1):62-70, janeiro 2014.

CATÃO, R.M.R., NUNES, L.E., VIANA, A.P.P., ROCHA, W.R.V., MEDEIROS, A.C.D. Atividade antibacteriana e efeito interativo in vitro de um produto a base de cranberry sobre *Escherichia coli*, **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**;35(4):723-729, 2014.

CLEGG, S. & GERLACH, G.F. Enterobacterial Fimbriae. **J Bacteriol**, Washington, v.169, n.3, p.934-938, 1987.

DÉZIEL, B.A., PATEL, K., NETO, C., GOTTSCHALL-PASS, K., HURTA, R.A. Proanthocyanidins from the American Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) inhibit matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 activity in human prostate cancer cells via alterations in multiple cellular signaling pathways, **J.Cell.Biochem**, 2010.

DE-LEÓN-JAÉN, S.C., OVADÍA-ROSENFELD, L., VASQUEZ-DELGADO, L.R., FAINSOD-ARONOWITZ, T. El arándano y su aplicación en urología, **Rev Mex Urol**;69(3):104-107, 2009.

DOUGHARI, J.H, EL-MAHMOOD, A.M, TYOYINA, I. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L). **Afr J Pharmacol.** 2(1):07- 13, 2008.

FERREIRA, A. J. P. & KNÖBL, T. Enfermidades bacterianas. In: JÚNIOR BERCHIERI, A.; SILVA, NEPOMUCENO, E.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. Doenças das aves. **Campinas: Facta**,. cap.4, p. 457-474, 2009.

FRANÇA, A.C.Y.R.; COUTINHO, V.G.; SPEXOTO, M.C. O Consumo do Cranberry no Tratamento de Doenças Inflamatórias, **Ensaios Cienc. Biol. Agrar. Saúde**, v. 18, n. 1, p. 47-53, 2014.

FONSECA, L.L.; OLIVEIRA, P.B. A planta de mirtilo: morfologia e fisiologia. **Divulgação AGRO**; 556(2): 1-26, 2007.

FURINI, A.A.C.; SILVA, B.T.O.S.; CHIAPARINI, J.; RAMOS, M.P.S.C.M.; MARTINS, E.A.; ATIQUÊ, T.S.C.; NETTO, H.A.; NARDO, C.D.D.N.; CASTRO, K.F. Análise epidemiológica, identificação e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos isolados de cães com infecção do trato urinário, **Acta Veterinária Brasília**, v.7, n.4, p.288-293, 2013.

GAASTRA, W.; DE GRAAF, F.K. Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escheichia coli* strains. **Microbiol Rev**, Washington, v.46, n.2, p.129-161, 1982.

GALASSI, G.; MALAGUTTI, L.; COLOMBINI, S.; RAPETTI, L.; CROVETTO, G.M. Effects of benzoic acid on nitrogen, phosphorus and energy balance and on ammonia emission from slurries in the heavy pig. **Italian Journal of Animal Science**, v.10, n.3, 2011.

GHELER, T.T.; ARAÚJO, L.F.; SILVA, C.C.; GOMES, G.A.; PRATA, M.F.; GOMIDE, C.A. Uso de ácido benzoico na dieta de leitões, **R. Bras. Zootec.** v.38, n.11, p.2182-2187, 2009.

GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. **Canada: Saunders/Elsevier**, 3.ed. 2006.

GONDIM, B.L.C., VIEIRA, T.I., CUNHA DA, SANTIAGO, B.M., VALENÇA, A.M.G. Atividade Antimicrobiana de Produtos Naturais Frente a Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr.**;11(1):123-7, 2011.

HOWELL, A.B., VORSA, N., MARDEROSIAN, A.D., FOO, L.Y. Inhibition of the adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial-cell surfaces by proanthocyanidin extracts from cranberries. **New England Journal of Medicine.**; 15(339):1085, 1998.

JANG, S.S.; LING, G.V.; YAMAMAMOTO, R. et al. Mycoplasma as a cause of canine urinary tract infection. **JAVMA**, v. 185, n. 1, p.45 – 47, 1984.

JEURISSEN, S.H.M.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J.D.; MROZ, Z.; REBEL, J.M.J.; HUURNE, A.A.H.M. Parameters and techniques health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. **Curr. Issues Intestinal Microbiology**, Netherlands, v.3, n.1, p.1-14, 2002.

JIN, Y. & LIN, D. Fungal urinary tract infections in the dog and cat: A retrospective study (2001-2004). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, p. 373-381, 2005.

JOHNSON, J.R. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v.4, n.1, p.80-128, 1991.

JOURDIAN, G. W. The sialic acids. **The Journal of Biological Chemistry**, 1971.

KAPER, J.B; NATARO, J.P., MOBLEY, H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat. Rev. Microbiol.** V2, p.13, 0 123- 140, 2004.

KEARNS, D. B. & LOSICK, R. Swarming motility in undomesticated *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*. **Cambridge**, v.49, p. 581–590, 2003.

KLEMM, P.; SCHEMBRI, M. A. Bacterial adhesins: function and structure. *International Journal of Medical Microbiology*. v. 290, p. 27–35, 2000.

KOLLER, F.L.; BARCELLOS, D.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F. Prevenção e Tratamento da Infecção Urinária em Matrizes Suínas. Porto Alegre, UFRGS. Setor De Suínos, 2006.

KOUTSOS, E. A. & ARIAS, V. J. Intestinal Ecology: Interactions Among the Gastrointestinal Tract, Nutrition, and the Microflora, **J. Appl. Poult. Res.** 15:161–173, 2006.

KORHONEN, T.K et al. Tissue interactions of *Escherichia coli* adhesins. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 54, p. 411-420, 1988.

KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. **Fems Microbiology reviews**, v. 24, n. 1, p. 107-117, 2000.

LATHAM, R.H.; STAMM, W.E. Role of fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections in adult women: correlation with localization studies. **J. Infect. Dis.**, v.149, n.6, p.835-840, 1984.

LANGONI, H.; SILVA, A.V.; BALDINI, S.; HOMEM, V.S.F.; LISTONI, F.J.P.; CAMARGO, M.J.B. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana na infecção do trato urinário em cães na região de Botucatu – SP, **Semina: Ci. Ag., Londrina**, v,17, n.1, p. 25- 29, mar 1996.

MARQUES, M.A. Caracterização de fatores de virulência e do perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC) oriunda da comunidade de São Luís-MA, Dissertação apresentada ao **Mestrado** em Biologia Parasitária do Centro Universitário do Maranhão (Uniceuma) para obtenção de Título de Mestre em Biologia Parasitária, 2011.

MAZUTTI, K., ALBERTON, G.C., FERREIRA, F.M., LUNARDON, I., ZOTTI, E., WEBER, S., Efeito do extrato de Oxicoço no tratamento de infecções do trato urinário em porcas; **Archives of Veterinary Science**, v 17, n.2, p 1-9, 2012.

MCMURDO, M.E.T., ARGO, I., PHILLIPS, G., DALY, F., DAVEY, P. Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. **J Antimicrob Chemother.**; 63(2):389- 395.DOI: 10.1093/jac/dkn489, 2009.

MENDES, L.P.M., MACIEL, K.M., VIEIRA, A.B.R., MENDONÇA, L.C.V., SILVA, M.F., ROLIM NETO, P.J., BARBOSA, W.L.R., VIEIRA, J.M.S. Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**;32(1):121-5, 2011.

MERINO, S.; SHAW, J. G.; TOMÁS, J. M. Bacterial lateral flagella: an inducible flagella system. **FEMS Microbiology Letters**. Barcelona, v. 263, p.127–135, out. 2006.

MORRIS, J.A. Escherichia coli fimbrial adhesins. **Pig News and Information**, v.4, n.1, p.19-21, 1983.

MUNDY, L.M.; SAHM, D.F.; GILMORE, M.S. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v.13, p. 513-522, 2000.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. **Braz. J. Microbiol.**; 31(4):247-56, 2000.

NARAYANAN, B.A., GEOFFREY, O., WILLINGHAM, C.M., RE, G.G., NIXON, D.W. P53 E P21 expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis. **Cancer Lett**, 1999.

NARAYANAN, B.A., RE, G.G. IGF II down regulation associated cell cycle arrest in colon cancer cells exposed to phenolic antioxidant ellagic acid. **Anticancer Res**. 2001.

NARAYANAN, B.A., NARAYANAN, N.K., STONER, G.D., BULLOCK, B.P. Interactive gene expression pattern in prostate cancer cells exposed to phenolic antioxidants. **Life Sciences**, 2002.

NELSON, R.W.; FELDMAN, E.C. Pyometra. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.16, n.3, p.561-576, 1986.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Small animal internal medicine. **St. Louis: Mosby**, 3.ed. 2003.

OLIVEIRA, W.F. et al. Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras fecais de frangos de corte procedentes de explorações industriais do Estado do Ceará, Brasil. **RPCV 99 (552)** 211-214, 2004.

OLSEN, A., ARNQVIST, A., HAMMAR, M. and NORMARK, S. Environmental regulation of curli production in *Escherichia coli*. **Infect. Agents**. Dist. 2:272-274, 1993.

O'MAY, C. & TUFENKJI, N. The swarming motility of pseudomonas aeruginosa is blocked by cranberry proanthocyanidins and other tannin-containing materials. **Am. Soc. Microbiol.**, v.77, n.9, p.3061-3067, 2011.

OSUGUI, L. Pesquisa e caracterização de amostras de ExPEC ("extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*") isoladas de infecções do trato urinário de cães e gatos, Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-graduação em Microbiologia, **Universidade de São Paulo**, 2008.

PRESSLER, B. M.; VADEN, S. L.; LANE, I. F.; COWGILL, L. D.; DYE, J. A. Candida spp. Urinary tract infections in 13 dogs and seven cats: Predisposing factors, treatment and outcome. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 39, p. 263- 270, 2003.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas. 1ª ed. Porto Alegre: **editora Artmed** 512p, 2005.

RAZ R, CHAZAN B, DAN M. Cranberry juice and urinary tract infection. **Clin. Infect Dis.** 2004; 38(10):1413–9. Epub 2004 Apr 26.

RECHE, A.J. The orbifloxacin in the treatment of lower urinary tract infections in cats. **Ciência Rural**, v 35, n. 6, p.1325-1330, 2005.

ROCHA, S.L.S. Detecção de fatores de virulência de amostras de *Escherichia coli* isoladas de granjas avícolas do RS através do MultiplexPCR. **Dissertação de Mestrado**. 68 f. Universidade do Rio Grande do Sul, 2008.

ROSSI, R., PORTA, S., CANOVI, B. Overview on cranberry and urinary tract infections in females. **J Clin Gastroenterol.**;44:61-2, 2010.

SAIDENBERG, A. B. S. Detecção de fatores de virulência de *Escherichia coli* isoladas em psitacídeos com diferentes manifestações clínicas. 76 f. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo., 2008.

SCHELZ, Z.; MOLNAR, J.; HOHMANN, J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. **Fitoterapia**, vol. 77, Junho, pgs 279–285, 2006.

SCHEMBRI, M.A et al. Differential Expression of the *Escherichia coli* autoaggregation factor antigen 43. **J. Bacteriol.**, v 185, p 2236-2242, 2003.

SCHIDFAR, F. The effects of cranberry juice on serum glucose, apoB, apoA-I, Lp(a), and Paraoxonase-1 activity in type 2 diabetic male patients. **J. Res. Med. Sci.**, v.17, n.4, p.355-360, 2012.

SEGUIN, M.A.; VADEN, S.L.; ALTIER, C.; STONE, E. & LEVINE, J.F. Persistent urinary tract infections and reinfections in 100 dogs (1989-1999). **J. Intern. Med.** 17:622-631, 2003.

SENIOR, D. Urinary tract infection – bacterial. In: BARTGES, J.; POLZIN, D.J. **Nephrology and Urology of Small Animals**, Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, p.710-716, 2011.

SHARON, N.; LIS, H. Carbohydrates in cell recognition. **SciAm**, v.1, p.82-89, 1993.

SILVA JR. A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolipídios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.238-245, 2009.

SIQUEIRA, A. K. Fatores de virulência de *Escherichia coli* isoladas de infecção do trato urinário, piometra e fezes de cães, **dissertação (Mestrado)** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP, 2006.

SOBESTIANSKY, J. Infecção urinária em fêmeas em produção. In: SOBESTIANSKY, J. e BARCELLOS, D. Doenças dos Suínos. Goiânia: **Cânone Editorial**, p.127-141, 2007.

TAGLIANI, M.M. Efeitos comparativos de diferentes géis à base de Cranberry e Proantocianidina sobre a dentina submetida à erosão: estudo in vitro. **Tese (Doutorado)** – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2015.

TENG, C.H. et al. *Escherichia coli* K1 RS218 Interacts with human brain microvascular endothelial cells via type 1 fimbria bacteria in the fimbriated state. **Infect. Immun.**, v.73, p. 2923-2931, 2005.

VASCONCELLOS, A.L. Diagnóstico de cistite em cães – contribuição dos métodos de avaliação, **Dissertação** apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção de título de Mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica), 2012.

WEESE J.S., BLONDEAU J.M., BOOTHE D., BREITSCHWERDT E.B., GUARDABASSI L., HILLIER A et al. 2011. Antimicrobial Use Guidelines for Treatment of Urinary Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines. **Vet Med Int**, v., p.1-9, 2011.

WINSTON, D.; GRAFF, A.; BRINCKMANN, J.; LANGER, R.; TURNER, A.; REICH, E. et al. Cranberry Fruit: *Vaccinium macrocarpon* Aiton. **American Herbal Pharmacopoeia**, 2002.

WU, V.C., QIU, X., BUSHWAY, A., HARPER, L. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. **LWT - Food Sci Technol.**;41:1834–41, 2008.

ZAGO, J.A.A.; USHIMARA, P.I.; BARBOSA, L.N.; JUNIOR, A.F. Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**: 828-833, Out./Dez. 2009.

CAPÍTULO II – CRANBERRIES (*VACCINIUM MACROCARPON* AITON) NA NUTRIÇÃO DE CÃES: INFLUÊNCIA NA DIGESTIBILIDADE, PALATABILIDADE E NO CURSO DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da cranberry nos parâmetros sanguíneos e urinários, na digestibilidade e palatabilidade da dieta em cães, bem como na possível influência na formação de fímbrias de *E.coli* UPEC-HAMR em testes *in vitro*. Sangue e urina foram coletados nos dias 0º e no 31º. Foram oferecidas duas dietas contendo 0% e 0,4% de cranberry a 10 cães da raça Beagle (n=5) durante 30 dias. Para a análise de digestibilidade das dietas, as fezes foram coletadas totalmente entre os dias 25º a 31º. Foram utilizados 16 cães adultos Beagles para o teste de palatabilidade, que comparou a razão de ingestão entre as dietas com 0% e 0,4% de cranberry. Para análise da formação de fímbrias de *E.coli* UPEC-HAMR *in vitro*, foram utilizadas duas cepas da bacterioteca do LABMICRO, cultivadas em seis meios diferentes. Os cães alimentados com cranberry apresentaram urina com coloração e aspecto mais claros após 30 dias de alimentação, em relação ao período controle (dia 0) e aos cães alimentados sem cranberry ($P<0,05$). Outros parâmetros avaliados como bacterioscopia, pH e densidade urinária não apresentaram variação significativa ($P>0,05$). Não houve efeito da cranberry sobre o hemograma dos cães ($P>0,05$). A dieta contendo cranberry apresentou maior digestibilidade da matéria seca, orgânica e do extrato etéreo e maior energia metabolizável, que a dieta controle ($P<0,05$) e influenciou na menor produção de ácido siálico ($P<0,05$). Não houve alteração das características fecais dos cães ($P>0,05$). Houve menor razão de ingestão da dieta contendo cranberry ($P<0,05$) e não houve influência da cranberry na formação de fímbrias de *E.coli* UPEC- HAMR. Pode-se concluir que a cranberry aumenta a digestibilidade dos nutrientes, exerce influência na excreção de ácido siálico e influencia na coloração e aspecto da urina. Entretanto, reduz a palatabilidade da dieta para cães e não altera a capacidade de adesão de *E.coli* UPEC-HAMR.

Palavras chaves: Infecção urinária, mirtilo-vermelho, oxicoço.

CRANBERRIES (*VACCINIUM MACROCARPON* AITON) IN DOG NUTRITION: INFLUENCE ON DIGESTIBILITY, PALATABILITY AND IN THE COURSE OF URINARY TRACT INFECTIONS.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of cranberry on blood and urinary blood, on the digestibility and palatability of the diet in dogs, as well as on the possible influence on the formation of UPEC-MRHA *E. coli* bacteria *in vitro* tests. Blood and urine were collected on days 0^o and not 31^o. Two diets containing 0% and 0.4% cranberry were given to 10 Beagle dogs (n = 5) for 30 days. For a digestibility analysis of diets, such as feces were collected completely between days 25^o to 31^o. Sixteen Beagles adult dogs were used for the palatability test, which compare the intake ratio between the 0% and 0.4% cranberry diets. To analyze the formation of fimbriae of *E. coli* UPEC-MRHA *in vitro*, two strains of microbiology laboratory collection were grown in six different media. The dogs were fed cranberry, which had a lighter color and appearance after 30 days of feeding compared to the control period (day 0) and to dogs fed without cranberry ($P < 0.05$). Other results such as bacterioscopy, pH and urinary density showed no significant variation ($P > 0.05$). There was no effect of cranberry on the blood count of the dogs ($P > 0.05$). The diet containing cranberry showed higher digestibility of dry matter, organic matter and ethereal extract and higher metabolizable energy, than the control diet ($P < 0.05$) and had a lower production of sialic acid ($P < 0.05$). There were no changes in the faecal characteristics of the dogs ($P > 0.05$). There was a lower intake rate of the diet containing cranberry ($P < 0.05$) and there was no influence of cranberry on the formation of *E.coli* UPEC-HAMR fimbriae. It can be concluded that cranberry increases the digestibility of nutrients, exerts influence on excretion of sialic acid and influences the color and appearance of urine. However, it reduces the palatability of the diet for dogs and does not alter the adhesion capacity of *E.coli* UPEC-HAMR.

Key words: urinary tract infection, blueberry- red, cranberry.

1. INTRODUÇÃO

Produtos derivados de plantas e frutos estão cada vez mais sendo estudados devido à possibilidade de estes apresentarem substâncias em sua composição que possuam atividades terapêuticas (CATÃO et al., 2014).

A cranberry (*Vaccinium macrocarpon* aiton) é um fruto inserido nos hábitos alimentares e tratamentos terapêuticos em todo o continente norte americano. Esta fruta é uma fonte importante de vitaminas, agentes antioxidantes e outros elementos nutritivos. Possui em sua composição compostos polifenólicos (agentes antioxidantes como taninos), ácidos orgânicos (ácido cítrico, málico, quínico e benzoico), além de catequinas e água (CHEN; ZUO; DENG, 2001).

São atribuídas a cranberry diversas ações terapêuticas como anticancerígenas, protetora do sistema cardiovascular, antifúngica, além de possuir ação antibacteriana prevenindo, por exemplo, doenças como a infecção do trato urinário. As antocianidinas e as proantocianidinas são taninos que apresentam uma função de defesa natural contra as células microbianas, são fontes de excelentes antioxidantes de alta qualidade (SALO et al., 2011). As antocianidinas, são capazes de agir sobre as células bacterianas rompendo a membrana citoplasmática e as proantocianidinas do Tipo A (PAC), únicas encontradas no cranberry, podem ajudar a impedir que determinadas bactérias nocivas se proliferem no organismo através da interferência na adesão bacteriana em diferentes tecidos.

Apesar dos potenciais benefícios associados ao consumo de cranberry, essa é uma fruta de sabor amargo, sendo pouco palatável. Inclusive, os alimentos humanos a base de cranberry normalmente são adocicados para melhorar seu sabor. Por isso, pode impactar negativamente na palatabilidade da dieta para cães.

Considerando a escassez de estudos com cranberry em cães e seu potencial efeito benéfico relatado em humanos, o objetivo deste estudo será dar ênfase as propriedades da cranberry, se esta exerce influência sobre os parâmetros sanguíneos, urinários, na palatabilidade e digestibilidade da dieta em cães, bem como na possível influencia na formação de fímbrias de *E.coli* UPEC- MRHA.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do Setor de Ciências agrárias, da Universidade Federal do Paraná, sob protocolo número 069/2015, 01/10/2015.

2.1 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA E URINÁRIA

2.1.1 Animais e instalações

Foram utilizados 10 cães adultos da raça Beagle (cinco machos e cinco fêmeas) com onze meses de idade, pesando em média 11 kg. Os cães foram mantidos individualmente em baias de alvenaria (5 x 2 m) cobertas contendo bebedouro e tapete de borracha. Os animais estavam vacinados e vermifugados, e foram submetidos à exames clínicos que atestaram seu estado de higiene.

2.1.2 Dietas experimentais e manejo alimentar

Foram avaliadas duas dietas, uma controle, sem adição de cranberry e outra contendo 0,4% de inclusão de cranberry desidratada (Tui alimentos®, Limeira, São Paulo, Brasil). A cranberry foi adicionada em cobertura, sobre uma dieta seca extrusada completa para cães adultos (Tabela 1) no momento do fornecimento aos cães. Os cães foram divididos em dois grupos, sendo um grupo controle e outro com adição de cranberry na dieta.

Os cães receberam as dietas experimentais duas vezes ao dia (às 8:00 h e às 16:00 h), durante 30 dias, em quantidade suficiente para suprir suas necessidades energéticas de acordo com o NRC (2006), e a água foi fornecida à vontade.

Tabela 1- Composição química analisada das dietas experimentais (% da matéria seca).

Item	Sem cranberry	Com cranberry
Matéria seca	92,85	92,94
Matéria orgânica	91,87	92,10
Matéria mineral	8,13	7,90
Proteína bruta	26,89	26,25
Fibra bruta	3,72	3,91
Extrato etéreo em hidrólise ácida	14,15	14,34

2.1.3 Urinálise

A urina foi coletada no início (dia 0) e final (dia 31^o) do experimento pelo procedimento de cistocentese, após antissepsia do local da punção. Foram coletadas 10 ml de urina de cada animal para realização da urinálise e bacterioscopia da urina.

Foi realizada análise por meio da leitura das tiras reagentes e posteriormente as amostras foram centrifugadas para análise de sedimento em microscopia óptica. O exame bacteriológico foi realizado por meio do isolamento de parte da amostra coletada e esta foi fixada em uma lâmina, sendo posteriormente corada com corante Gram para a identificação bacteriana. Após este processo, foi realizada a leitura em microscópio para identificação da bactéria.

2.1.4 Parâmetros sanguíneos

A coleta de sangue foi realizada no início (dia 0) e final (dia 31^o) do experimento. Após a contenção física dos cães, a antissepsia local com álcool iodado, a amostra foi coletada pela veia jugular através da introdução da agulha (40x12). Após a punção, transferiram-se as amostras em tubos com EDTA, os quais foram identificados, refrigerados e levados para análise. O hemograma (Celldin ®) foi realizado por meio da contagem global de células em contador automatizado e diferencial de células em contagem em lâmina.

2.1.5. Análise estatística

Os dados da urina e sangue foram analisados segundo delineamento inteiramente ao acaso em parcela subdividida no tempo, sendo a parcela as dietas e as subparcelas os períodos de avaliação (tempos 0 e 31º dia), totalizando cinco repetições por tratamento. Os dados foram previamente avaliados quanto à sua normalidade pelo teste Shapiro Wilk. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste Kruskal Wallis ($P < 0,05$).

2.2. ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

2.2.1 Dietas experimentais, animais e instalações.

Foram utilizadas as mesmas dietas e cães descritos no experimento 1. Os animais foram mantidos nas mesmas condições descritas anteriormente.

2.2.2 Protocolo experimental e análises laboratoriais

O ensaio de digestibilidade foi conduzido pelo método de colheita total de fezes, segundo as recomendações da Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2008). Sendo que os animais passaram por 25 dias de adaptação às dietas, seguido por cinco dias de coleta de fezes.

As fezes foram coletadas duas vezes ao dia, pesadas e congeladas individualmente (-14°C). O pH e a amônia foram avaliadas em duplicata nas fezes frescas colhidas no máximo após 15 minutos de defecação.

O pH fecal foi avaliado em três gramas de fezes frescas, diluídas em 20 ml de água destilada usando um pHmêtro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste LTDA, São Paulo, SP, Brasil). O teor de amônia foi determinado em 5 g de fezes frescas, as quais foram coletadas e incubadas em balão de 500 ml e fechado com uma rolha contendo 250 ml de água destilada durante 1 hora. Posteriormente, foram adicionadas três gotas de álcool octaetílico (1-octanol) e dois gramas de óxido de magnésio, sendo destilados em aparelho Macro-Kjeldahl e recuperado em Becker contendo cinquenta ml de ácido bórico.

A amônia foi titulada utilizando ácido sulfúrico padrão 0,1 N e sua concentração foi calculada como: $\text{N-amoniaco (g/kg)} = \text{N} \times 6,25 \times 16,5 \times (\text{volume de ácido da amostra} - \text{volume de ácido do branco}) / \text{peso da amostra em gramas}$.

A consistência fecal foi avaliada por meio do escore com graduação de 1 a 5, sendo classificados, segundo Carciofi (2009) como: 1- fezes pastosas; 2- fezes macias e malformadas; 3- fezes macias, formadas e úmidas; 4 - fezes consistentes e 5 - fezes bem formadas, duras e secas. Ao final das colheitas fecais, a mistura composta das fezes de cada animal foi descongelada e homogeneizada.

As amostras das dietas e fezes foram analisadas quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB, método 954.01), matéria mineral (MM, método 942.05), extrato etéreo em hidrólise ácida (EE, método 954.02) e energia bruta (EB) em bomba calorimétrica (Parr Instrument Co., model 1261, Moline, IL, USA).

A partir dos resultados obtidos, os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das variáveis foram calculados pela equação:

$$\text{CDA\%} = ((\text{g nutriente ingerido} - \text{g nutriente excretado}) / \text{g nutriente ingerido}) \times 100$$

A energia metabolizável (EM) foi estimada segundo a AAFCO (2004):

$$\text{EM (kcal.g}^{-1}\text{)} = \{\text{kcal.g}^{-1} \text{ EB ingerida} - \text{kcal.g}^{-1} \text{ EB excretada nas fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal.g}^{-1}]\} / \text{g ração ingerida}.$$

Para análise de ácido siálico, as fezes foram liofilizadas e a análise feita de acordo com JOURDIAN et al. (1971).

2.2.3 Delineamento e análise estatística

Os dados foram analisados segundo delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições por tratamento. Os dados foram analisados quanto à sua normalidade pelo teste Shapiro Wilk. Os dados com distribuição normal foram submetidos ao teste t-Student e os demais ao teste Kruskal-Wallis, ambos a 5% de probabilidade.

2.3 ENSAIO DE PALATABILIDADE

2.3.1 Dietas experimentais

A avaliação da palatabilidade foi realizada comparando-se as dietas em pares: dieta controle (0% Cranberry) vs. teste (0,4% cranberry).

2.3.2 Animais e instalações

Foram utilizados 16 cães da raça Beagle: oito machos e oito fêmeas com peso médio de 11 kg e 11 meses de idade. Durante o ensaio de palatabilidade, os animais foram alojados em baias individuais de alvenaria (5 metros de comprimento x 2 metros de largura).

2.3.3 Procedimentos experimentais

Cada teste de palatabilidade foi composto por três dias consecutivos, nos quais foi fornecido uma vez ao dia às 08:00 horas dois potes contendo as duas diferentes dietas a serem comparadas, durante um período de 30 minutos. A posição relativa dos comedouros foi alternada durante o período experimental, de forma a não condicionar o animal ao local de alimentação.

A palatabilidade foi determinada por meio da mensuração da preferência alimentar entre as rações ofertadas aos cães. As quantidades fornecidas e as sobras foram quantificadas para se calcular a preferência alimentar. A preferência alimentar foi calculada com base no consumo (fornecido – sobras) relativo das dietas (A e B), sendo:

Razão de ingestão (%) = $\left[\frac{\text{g ingeridas da dieta A ou B}}{\text{g totais fornecidas (A + B)}} \right] \times 100$.

2.3.4 Delineamento e análises estatísticas

O delineamento adotado foi inteiramente casualizado, com 48 repetições (16 cães x 3 dias). Os dados foram submetidos ao teste T-Student, com 5% de probabilidade.

2.4 INFLUÊNCIA DA CRANBERRY SOBRE ISOLADOS DE *E.coli* CLASSIFICADOS COMO UPEC- HAMR

2.4.1 Escolhas de cepas HAMR (*Escherichia coli* Manose resistente)

Para a realização dos testes de hemaglutinação, foram escolhidos dois isolados de *E. coli* (EC-1 e EC-2) pertencentes a bacterioteca do LABMICRO do Departamento de Medicina Veterinária da UFPR, identificados como HAMR originalmente isolados em cultura pura de casos de cistite bacteriana canina, atendidos no Hospital Veterinário da UFPR.

2.4.2 Confirmação da expressão de adesinas fimbriais

Verificou-se a expressão de adesinas fimbriais nos patógenos EC-1 e EC-2 através da técnica de hemaglutinação em lâmina, descrita por Evans et al, (1981) modificada, sendo por isso classificadas como UPEC HAMR, devido a hemaglutinação ter se apresentado com a mesma intensidade na presença e na ausência de D- Manose a 1%. O crescimento bacteriano foi obtido em ágar BHI (BRAIN HEART INFUSION

AGAR) suplementado com 5% de sangue, em pH 7,2 confirmando a identificação das mesmas como UPEC HAMR.

2.4.3 Preparo da solução mãe de cranberry a 25%

Obteve-se uma solução mãe denominada extrato de cranberry a 25% adicionando 25g de pó de cranberry em 100 ml de solução fisiológica. A seguir, esta solução foi filtrada em membrana de acetato celulose 0,65 μ , obtendo-se um extrato estéril para ser adicionado no meio de cultura denominado Ágar BHI suplementado ou não com sangue de carneiro em pH 5 e pH 7.2.

2.4.4 Influência de extrato de cranberry sobre isolados de *E.coli* UPEC- HAMR.

Verificou-se a influência do extrato de cranberry sobre a produção de fimbrias HAMR utilizando-se os seguintes meios de cultura: Meio 1-ágar BHI suplementado com solução a 5% de sangue de carneiro em pH 7,2; Meio 2-ágar BHI suplementado com solução a 5% de sangue de carneiro em pH 5,0; Meio 3- ágar BHI suplementado com solução a 5% de extrato de cranberry em pH 7,2 filtrado em membrana (MILLIPORE®) de acetato de celulose 0,65 μ ; Meio 4- ágar BHI suplementado com solução a 5% de extrato de cranberry em pH 5,0 filtrado em membrana (MILLIPORE®) de acetato de celulose 0,65 μ ; Meio 5- ágar BHI suplementado com 5% de extrato de cranberry e 5% de sangue de carneiro em pH 7,2 e Meio 6- ágar BHI suplementado com 5% de extrato de cranberry e 5% de sangue de carneiro em pH 5,0.

2.4.5 Obtenção do crescimento bacteriano em meio 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

Os dois isolados de *E. coli* EC-1 e EC-2 foram semeados na superfície dos seis meios de cultura (Meio 1, Meio 2, Meio 3, Meio 4, Meio 5 e Meio 6) em temperatura de 37°C por 48-72 horas para obtenção de colônias bacterianas a serem submetidas ao teste de Hemaglutinação, bem como para a formação das fimbrias.

2.4.6 Técnica de hemaglutinação lâmina de microscopia

Verificou-se a expressão de adesinas fimbriais nos patógeno EC-1 e EC-2 semeados nos meios denominados meio 1, 2, 3, 4, 5 e 6 através da técnica de hemaglutinação em lâmina, descrita por Evans et al, (1981) modificada. Para tanto, o induto bacteriano obtido na superfície dos meios acima citados foi transferido com auxílio de um swab de algodão estéril, sendo os indutos bacteriano diluídos em 2 ml de

solução PBS (tampão fosfato-salina) em pH 7,2 contida em frascos do tipo “penicilina”, de modo a obter uma solução turva de aspecto leitoso.

A seguir, 25 microlitros desta solução foram homogeneizados com 25 microlitros de uma solução de PBS contendo 5% de hemácias de carneiro sobre uma lâmina de microscopia, de modo a obter-se um total de 50 microlitros contendo hemácias e células bacterianas.

A seguir resfriou-se a parte inferior da lâmina de vidro com o auxílio de gel base de polímero neutralizante em estado sólido por um período de 5 minutos, imprimindo-se movimentos circulares constantes. O efeito hemaglutinante foi verificado a olho nu com o auxílio de luz branca sob a lâmina de vidro sendo confirmado sob microscopia ótica comum com objetivas plana-cromáticas de 10X em microscópio Olympus® modelo BX-41.

A confirmação final foi realizada transferindo-se gotas hemaglutinadas sobre lâminas de microscopia, deixando-se esta inclinada de modo a permitir que a gota deslize sobre a lâmina de modo a manter a integridade das hemácias utilizadas, sendo as mesmas coradas pela técnica do Panótico após secagem completa da gota utilizada.

3 RESULTADOS

3.1 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA E URINÁRIA

Os cães apresentaram maior concentração de leucócitos ($P < 0,05$) no período inicial de experimento (dia 0), em relação ao período final (31º dia). No entanto, a dieta não alterou a concentração de leucócitos ($P > 0,05$) dos cães. Os outros parâmetros sanguíneos avaliados apresentaram-se dentro da normalidade, sem variação estatística ($P > 0,05$), tanto entre os períodos de avaliação, como entre as dietas contendo ou não cranberry (Tabela 2).

Valores de referência: Eritrócitos- 6,0 a 7,0(mi/μL); Hematócrito - 40 a 47(%); Hemoglobina- 14,0 a 17,0

Variáveis	Dia 0º		Dia 31º		EPM	Probabilidades		
	Sem Cranb.	Com Cranb.	Sem Cranb.	Com Cranb.		Dieta (D)	Período (P)	D x P
Eritrócitos (mi/μL)	6,3	6,6	6,8	6,4	0,0921	0,631	0,453	0,104
Hematócrito (%)	43,4	45,2	45,4	44,2	0,6508	0,709	0,682	0,352
Hemoglobina (g/dL)	14,22	15,08	15,54	15,16	0,7880	0,409	0,206	0,222
VCM (g/dL)	68,016	68,256	66,200	68,616	0,5657	0,364	0,034	0,415
Leucócitos (mm³)	20,460	16,560	14,860	13,780	1073,4	0,364	0,034	0,415
Neutrófilos (%)	71,8	65,4	70,4	74,0	1.8868	0,751	0,378	0,231
Neutrófilos (mm)	15,2528	10,8990	10,5060	10,1994	1020,7	0,339	0,194	0,323
Plaquetas	465.000	456.400	440.600	394.600	14,844	0,308	0,583	0,418

(g/dL); VCM- 65 a 78(g/dL); Leucócitos - 6.000 a 17.000(mm³); Neutrófilos- 55 a 70(%); Neutrófilos- 3.300 a 11.900(mm); Plaquetas- 150.000 a 800.000.

Sem Cranb – Sem cranberry

Com Cranb - Com cranberry

VCM - volume corpuscular médio

EPM – erro padrão da média

Na urinálise e bacterioscopia, pode-se observar variação estatística ($P < 0,05$) para aspecto e coloração (Tabela 3). Os cães alimentados com cranberry apresentaram urina com coloração e aspecto mais claros após 30 dias de alimentação, em relação ao período controle (dia 0) e aos cães alimentados sem cranberry ($P < 0,05$). As demais variáveis analisadas na urina não diferiram entre si ($P > 0,05$). Na bacterioscopia realizada, tanto na primeira como na segunda coleta, foram encontrados presente bacilos Gram negativos e raros cocos Gram positivos, porém não indicaram variação significativa ($P < 0,05$). Os outros parâmetros avaliados como densidade, flora bacteriana e pH apresentaram-se dentro da normalidade ($P > 0,05$).

Tabela 3 – Medianas e percentis (p25; p75) das variáveis da urinálise de cães que consumiram ou não a cranberry.

Variáveis	Dia 0 ^o		Dia 31 ^o		P
	Sem cranberry	Com cranberry	Sem cranberry	Com cranberry	
Aspecto	1 (1;1) ^b	2 (1;3) ^b	2 (1;3) ^b	3 (3;3) ^a	0,005
Bacterios	1 (1;1)	1 (1;3)	1 (1;1,5)	1 (1;2)	0,483
Coloração	1 (1;1) ^b	1 (1;1) ^b	1 (1;1) ^b	2 (1;2) ^a	0,006
Densidade	1020 (1015;1020)	1020 (1020;1020)	1020 (1017;1020)	1020 (1017;1020)	0,797
Flora	2 (1,5;2,5)	2 (1;2)	2 (2;2)	2 (2;2)	0,404
pH	5 (5;6)	5 (5;5)	5 (5;5,5)	5 (5;5,5)	0,797

Bacterios – bacterioscopia; Flora- flora bacteriana; Densidade (g/L)

Aspecto: Levemente turva = 1; Turva = 2; Clara = 3.

Bacterioscopia: Negativo = 1; Raros Bacilos Gram negativo = 2; Raros cocos Gram positivos = 3

Coloração: amarelo citrino = 1; amarelo claro = 2

Flora bacteriana: negativo = 1; discreta = 2; moderada = 3

^{a,b} Letras distintas indicam diferença pelo teste Kruskal-Wallis.

3.2 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

Os cães consumiram totalmente as dietas oferecidas e episódios de vômitos e diarreias não foram observados durante o período do experimento. A inclusão de cranberry à dieta aumentou ($P < 0,05$) a digestibilidade da MS, MO, EEA e a EM. Não houve efeito da cranberry sobre a digestibilidade da PB e MSf ($P > 0,05$, Tabela 4).

Tabela 4 - Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA %) e energia metabolizável (EM kcal/kg) de dietas com e sem cranberry e matéria seca fecal (MSf, %) de cães.

Dieta	CDA (%)					
	MS	MO	PB	EEA	EM	MSf
Com cranberry	79,1	84,5	80,3	90,9	3987,5	40,5
Sem cranberry	75,4	81,7	80,9	87,8	3885,7	39,4
EPM	0,87	0,61	0,45	0,86	25,5	0,73
P	0,015	0,012	0,470	0,0174	0,049	0,503

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EEA: extrato etéreo em hidrólise ácida; MSf: matéria seca fecal; EPM: erro padrão da média.

$P > 0,05$ pelo test t-Student.

Não houve diferença nas características fecais dos cães alimentados ou não com cranberry ($P > 0,05$, tabela 5), porém a inclusão de cranberry à dieta ($P < 0,05$) ocasionou uma diminuição na produção de ácido siálico.

Tabela 5 - Percentis da amônia (NH₃), pH, escore fecal e ácido siálico fecal de cães alimentados com dietas contendo ou não cranberry.

Escore fecal: 1= fezes líquidas a 5 = fezes secas

Dieta	NH ₃ (%)	pH	Escore	Ácido Siálico (umol /g)
Com cranberry	0,10	7,30	3,8	3.5600
Sem cranberry	0,09	7,07	3,7	3.9775
P	0,298	0,630	0,274	0.0128

P>0,05 pelo teste Kruskal-Wallis.

P>0,05 pelo test t-Student

3.3 ENSAIO DE PALATABILIDADE

Houve menor RI (P<0,05) da dieta com inclusão de 0,4% de cranberry, comparado à dieta sem inclusão pelos cães (Tabela 6).

Tabela 6 - Razão de ingestão (RI, média ± erro padrão) das dietas sem (A) e com cranberry (B) em cães.

Dieta A vs. B	RI da dieta A ^a
0% vs. 0,4% Cranberry	0,59 ± 0,42*

*Valor de P <0,05 para RI pelo teste t-Student

^aRI: g ingeridas da dieta A ou B/ g totais fornecidas (A + B).

3.4 INFLUÊNCIA DA CRANBERRY SOBRE ISOLADOS DE E.COLI CLASSIFICADOS COMO UPEC- HAMR

O ensaio realizado com cepas *E.coli* UPEC- HAMR denominadas de EC-1 e EC-2 *in vitro* não demonstrou redução na proliferação de bactérias e suas fímbrias ou da hemaglutinação de hemácias quando em contato com extrato de cranberry, sendo observada em todos os meios de cultura a formação visível de ilhotas de hemácias e agregação bacteriana a estas em pH 7,2 e menos intensamente em pH 5,0, comprovando a presença de fímbrias nas cepas analisadas e a pouca interferência do meio de cultura ou pH na proliferação ou adesão bacteriana (Tabela 7).

Tabela 7- Expressão de amostras de *E.coli* UPEC-HAMR isoladas de cães pelo teste de hemaglutinação.

Classificação	Hemaglutinação
---------------	----------------

Cepas de <i>E.coli</i>		ASA 7,2	ASA 5,0	ACB 7,2	ACB 5,0	ASCB 7,2	ASCB 5,0
EC-1	HAMR	+	+	+	+	+	(+)
EC-2	HAMR	+	+	+	+	+	(+)

EC HAMR- *E.coli* manose resistente

EC- cepas de *E.coli* referência

ASA7,2- ágar sangue em pH 7,2; ASA5,0- ágar sangue em pH 5,0; ACB7,2- ágar cranberry em pH 7,2; ACB5,0- ágar cranberry em pH 5,0; ASCB7,2- ágar cranberry sangue em pH 7,2; ASCB5,0- ágar cranberry sangue em pH 5,0.

+: Hemaglutinação forte

(+): Hemaglutinação fraca

4. DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA E URINÁRIA

Pode-se observar com os resultados obtidos na análise sanguínea, que houve aumento na produção de leucócitos no início do experimento nos cães avaliados, influenciado pelo período da análise, caracterizando uma leucocitose. São inúmeros os fatores que podem ocasionar leucocitose em cães, podendo esta ser fisiológica, reativa ou proliferativa (LOPES et al., 2007). Nos cães em que foi coletada a amostra de sangue, a variação na quantidade de leucócitos observada pode ser classificada como reativa, devido à vacinação realizada no período do experimento, sendo que esta foi imprescindível. Apesar da leucocitose e leve queda na quantidade dos leucócitos entre os períodos, não se pode constatar ação da cranberry sobre estas células, já que a diminuição de leucócitos ocorreu para os dois grupos (controle e teste). Os outros parâmetros sanguíneos avaliados não apresentaram variação significativa ($P < 0,05$) tanto para cães que consumiram a dieta com 0,4% de cranberry como para os que consumiram a dieta normal, indicando que a adição da fruta na alimentação foi segura para o consumo animal.

Nos cães analisados, não foram observados sinais clínicos indicativos de doenças e, por este motivo, outros estudos devem ser realizados para que se obtenha maior informação sobre a influência da cranberry nos parâmetros sanguíneos, principalmente ao combate a infecções bacterianas em cães sintomáticos e se é possível notar uma diferença nos mediadores inflamatórios após o consumo desta.

Segundo Sato (2005), a natureza dos microrganismos invasores do trato urinário depende da história da infecção, de fatores como anomalias congênitas ou fatores obstrutivos, ou ainda do uso de instrumentação no trato urinário. Em 90% dos casos, a ITU é causada pela *E.coli*, porém outros microrganismos Gram negativos também podem

ser responsáveis por causar a infecção como, por exemplo, *Klebsiella*, *Proteus spp.*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, enterococos e estafilococos, sendo a presença destes microrganismos nas amostras um indicativo de ITU.

Nas amostras coletadas observou-se presença de raros bacilos Gram negativos no primeiro período de análise e, no segundo período observou-se também a presença de raros cocos positivos, além dos bacilos Gram negativos, sendo que estes não foram identificados. Porém, não foi observada significância estatística em relação à presença de bactérias antes e após o consumo da cranberry pelos cães do grupo teste e do grupo controle. Este fato indica que a cranberry não atuou contra os microrganismos já presentes no trato urinário dos cães saudáveis, sem diagnóstico de ITU.

Na análise urinária realizada também se observou que as amostras coletadas apresentaram variação estatística para a coloração da urina, quando se compara as duas coletas realizadas, no dia 0 e no 30º dia. Posterior ao consumo de cranberry observou-se variação entre coloração amarelo citrino para amarelo claro. Apesar de esta mudança de coloração da urina estar dentro dos parâmetros de normalidade, pode-se indicar a ação da cranberry sobre este fator, já que a maior variação nos resultados ocorreu para cães no segundo período e que consumiram a dieta teste.

O mesmo ocorreu em relação ao aspecto urinário. Verificou-se variação estatística nas amostras coletadas dos cães que consumiram a dieta com adição da cranberry, porém estando dentro dos padrões esperados, em que a urina canina deve apresentar aspecto límpido a levemente turva (FEITOSA et al., 2008). A urina turva indica aumento na sedimentação urinária, a qual pode ocorrer por deposição de proteína, células epiteliais, bactérias, cristais, entre outros (SOBESTIANSKY, 2007; MAZUTTI, 2012). É comum a presença de cristais na urina, os quais são formados pela deposição de sais, pela alteração de pH, temperatura ou concentração (DROLET & DEE, 1999). Segundo Alberton (1996), não há correlação entre a presença de cristais na urina com a ITU.

Outro parâmetro também avaliado no experimento foi o pH, o qual pode sofrer influência de vários aspectos, como composição do alimento fornecido, horário e volume da alimentação (BUFFINGTON & CHEW, 1996).

Em consequência disso, torna-se importante realizar avaliações urinárias para que a influência de fatores como onda alcalina pós-prandial não interfira nos resultados (ALLEN & KRUGER, 2000). A influência da nutrição no pH urinário está relacionada com

os nutrientes fornecidos e os ácidos presentes no alimento (ALLEN & KRUGER, 2000). Na cranberry, os ácidos que influenciam no pH urinário são o ácido quínico e benzoico.

Para animais que recebem diagnóstico positivo para ITU espera-se encontrar urina com pH alcalino, o qual favorece a presença de bactérias, sendo os valores de pH considerados normais para urina de cães entre 4,5 a 8,5 (FEITOSA et al., 2008).

Das amostras coletadas, o pH urinário não apresentou variação estatística e os resultados obtidos estavam dentro dos parâmetros considerados normais, variando entre 5 e 8. Portanto, a cranberry e seus componentes não atuaram na acidificação da urina dos cães e este resultado pode estar relacionado com a quantidade fornecida de cranberry aos animais. Não foram encontrados estudos relacionados ao fornecimento da cranberry para cães, sendo difícil estipular a quantidade necessária que deve ser fornecida aos animais e a partir de que período se observa a efetividade desta fruta. Por isso, são necessários mais estudos para se determinar a dose que deve ser fornecida, especialmente a aqueles animais com diagnóstico de ITU.

4.2 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

A cranberry se mostrou interessante para melhorar a digestibilidade da dieta, pois se observou que os animais que consumiram a dieta contendo cranberry, tiveram maiores resultados na digestão da MS, MO, EE e na EM da dieta.

Devido a este aumento na digestão, realizou-se a avaliação da concentração do ácido siálico visto que, a análise deste ácido em excretas de animais, como no caso de cães, pode fornecer maiores informações sobre o metabolismo e saúde intestinal (PIRGOZLIEV et al., 2005). Segundo JOURDIAN et al. (1971) essa substância é produzida na mucosa intestinal e liberada no lúmen intestinal quando a parede do trato é danificada, e está associada a patologias, infecções bacterianas, fragilidade osmótica, além de ser um indicador de perdas endógenas do trato gastrointestinal de animais.

Não está claro na literatura como a excreção deste ácido afeta a nutrição animal e ainda existe pouca informação sobre a mensuração de ácido siálico em fezes de cães, porém já é sabido que secreção excessiva deste ácido, além de aumentar a perda endógena de nutrientes, também prejudica a absorção destes pela barreira formada entre a digesta e as enzimas (ROCHA, 2014).

Observou-se que os animais que ingeriram a dieta com cranberry apresentaram menor produção de ácido siálico quando comparados ao grupo controle, indicando

melhora da saúde intestinal destes animais e explicando a maior digestibilidade da MS, MO, EE e EM da dieta.

Embora não tenha encontrado efeito da cranberry sobre a digestibilidade da proteína, o ácido benzoico, segundo Mroz (2005), aumenta a digestibilidade de aminoácidos e ainda reduz a emissão de amônia pelos dejetos excretados pelos animais. Segundo Schöner (2001), a adição de ácidos orgânicos nas dietas dos animais induz a uma rápida redução do valor de pH no estômago, tornando mais rápida a ativação do pepsinogênio em pepsina.

Os produtos resultantes da digestão das proteínas pela pepsina chegam ao duodeno e estimulam a secreção de enzimas pancreáticas e bicarbonato, no qual pode apresentar função significativa sobre a regulação do esvaziamento gástrico, que se torna mais lento (LEHNINGER, 1990). Assim, a redução do pH e o esvaziamento gástrico podem tornar as proteínas mais hidrolisadas e favorecer seu processo de digestão (ROCHA et al., 2008).

Ainda, o ácido benzoico pode influenciar na capacidade absorptiva dos enterócitos, sendo precursor para a síntese de aminoácidos não essenciais, que são utilizados pelas células intestinais como energia para seu crescimento (BLATHERWICK et al., 1923; MROZ, 2005).

A cranberry possui uma quantidade significativa de ácido benzoico (5g por kg de fruta), mas ainda existem poucos estudos sobre a presença e ação deste ácido nesta fruta e qual seria o mecanismo de ação dos componentes da cranberry no organismo dos animais. Apesar dos efeitos acidificantes e de redução na excreção de amônia relatados por Mroz (2005), no presente estudo, a cranberry não alterou a consistência, pH e amônia fecal dos cães.

Ainda, podemos relacionar as proantocianidinas tipo A, presentes na composição da cranberry, com a melhora da digestibilidade de tais componentes citados anteriormente. Devido a sua ação anti-adesão bacteriana, as quais agem se aderindo as fímbrias bacterianas impedindo que bactérias gram negativas por exemplo, como a *E.coli* presentes no trato intestinal consigam se aderir a parede do trato, acabem sendo eliminadas junto com as fezes, sendo que esta então poderia exercer uma ação similar a um prebiótico quando disponível no intestino. Porém, a ação das PAC no intestino tanto de seres humanos quanto de animais ainda não está bem elucidado.

São necessárias, portanto, pesquisas para melhor compreensão da quantidade necessária que deve ser fornecido á cães de ácido benzoico sem que ocorra a alteração

de consistência fecal, pois já é sabido que a sua ingestão em grande quantidade pode ocasionar quadro diarreico (MCMURDO et al., 2008), refluxo, náuseas, enxaqueca, hiperglicemia e reações cutâneas em seres humanos e também são necessárias pesquisas para maior compreensão da ação dos componentes da cranberry na flora microbiana intestinal.

4. 3 ENSAIO DE PALATABILIDADE

Pouco são os estudos referentes às preferências alimentares de cães, porém já foi observado por Houpt et al. (1978) que os cães apresentam alta preferência por carne e açúcar, e aditivos alimentares com sabores amargos podem tornar-se impalatáveis para estes animais. Já é sabido que, além dos fatores químicos e físicos que influenciam no consumo de alimentos por cães, o odor, sabor e textura dos alimentos também é um fator influenciador no consumo por estes.

A fruta cranberry não é palatável para humanos, apresentando gosto amargo e ácido. Os produtos comercializados para seres humanos com cranberry normalmente são adocicados para que se torne mais atrativo o seu consumo (JEPSON et al., 2012).

A baixa palatabilidade da cranberry influenciou no consumo da dieta em cães, os quais preferiram a dieta sem a inclusão da fruta. Apesar disso, os cães que receberam exclusivamente a dieta contendo cranberry durante 30 dias não se recusaram a ingerir a ração com adição desta, apresentando consumo total do ofertado.

Outro fator influenciador na escolha dos cães em relação à escolha da dieta foi a forma física do aditivo, o qual foi ofertado aos animais em pó, pulverizado sobre a dieta. Já é sabido que cães de modo geral, preferem alimentos úmidos ou semiúmidos, com abundância de proteínas e lipídios em sua composição e dietas secas extrusadas, pobres em lipídios e proteínas são menos aceitas (FELIX et al., 2010). O produto utilizado apresentava em sua composição apenas extrato de cranberry e carboidratos, com baixas quantidades de vitaminas, proteínas e lipídios (KITCHELL, 1972).

Novos estudos, avaliando diferentes modos de inclusão da cranberry na dieta de cães são necessários, como sua inclusão na massa, antes da extrusão ou juntamente com o palatilizante.

4.4 INFLUÊNCIA DA CRANBERRY SOBRE ISOLADOS DE *E.coli* CLASSIFICADOS COMO UPEC- HAMR

No presente estudo verificou-se que o extrato de cranberry, presente na formulação do meio de cultura, não foi capaz de alterar a capacidade fenotípica das cepas EC-1 e EC-2 ao expressarem fimbrias HAMR, sendo que em meios de cultura com pH 5,0, foi observada uma expressão fenotípica menor do que em pH 7.2.

O mecanismo pelo qual a cranberry altera a capacidade de adesão de *E.coli* ainda é objeto de estudo e são necessárias mais pesquisas a fim de identificar se quais componentes da cranberry possuem ação antibacteriana, inibindo a adesão das mesmas no epitélio vesical.

Recente experimento realizado por Olby e colaboradores (2017), não demonstrou o benefício do extrato de cranberry, fornecido por via oral a cães com injúria medular, em eliminar uma bacteriúria já estabelecida em cães infectados. Porém, em animais não infectados, o risco de contaminação bacteriana apresentou-se menor após o fornecimento desta fruta.

Diversos grupos de pesquisa abordaram a possível ação inibitória de crescimento bacteriano no epitélio vesical de diversas maneiras. Como primeiro exemplo, pode-se citar BLATHERWICK & LOUISA (1923), os quais acreditavam que a acidez da cranberry (devido ao ácido benzoico) conferia atividade antibacteriana e que os componentes desta fruta poderiam alterar a adesão de *E.coli* a células eucarióticas. Porém Fellers e colaboradores (1933), posteriormente, não observaram alterações no pH urinário de humanos após o consumo desta fruta. Esta crença que a influência da cranberry no pH urinário impedia a adesão bacteriana foi desmitificada por Liu e colaboradores (2006), demonstrando que mesmo em pH neutro, o mecanismo de adesão eletrostático bacteriano não foi alterado.

Johnson et al (2008) verificaram o impacto da cranberry na superfície celular de *E.coli*, demonstrando através da microscopia eletrônica alterações significativas na parede, e que estas também poderiam conjuntamente influenciar na presença das fímbrias. Liu et al. (2008) verificou também que o extrato de cranberry provocou mudanças nas propriedades físico-químicas na superfície de *E.coli*, influenciando, portanto, na adesão às células uroepiteliais. Nesta pesquisa os autores não mencionaram a classificação das cepas de *E.coli* utilizadas e a possível influência das fímbrias neste quesito.

Estudos *in vitro* têm revelado que as proantocianidinas (PAC) do Tipo A únicas encontradas na cranberry, são as responsáveis por impedir que bactérias com presença de fimbrias tipo 1 e tipo P, como as *E.coli* UPEC, se fixem às células, impedindo que estas se proliferem e causem infecções como a ITU (O'MAY & TUFENKJI, 2011).

Vale citar Ahuja e colaboradores (1998), os quais abordaram os efeitos do extrato desta fruta na expressão fenotípica de genes responsáveis pela produção de fimbrias P, de maneira a influenciar o processo inicial de adesão bacteriana. Segundo os autores, houve inibição desta expressão, sendo esta pesquisa àquela que mais se aproximou com o presente trabalho. No entanto, os autores utilizaram teste de aglutinação com anticorpo específico anti-fimbria, verificando a ausência das mesmas quando em presença do extrato de cranberry e não testes de hemaglutinação que são mais específicos.

As pesquisas reveladas acima demonstraram as diferentes abordagens utilizadas pelos vários grupos de estudo, não focando em uma única propriedade bacteriana em especial. Embora *E. coli* tenha sido um protótipo de modelo a ser utilizado quanto a capacidade de provocar cistites bacterianas, nota-se uma ampla diversidade de estudos sem conclusões afirmativas da capacidade antibacteriana sobre patógenos. Sabendo que diversas espécies bacterianas são igualmente causadoras de infecções vesicais juntamente com *E. coli*, deve-se admitir que a abordagem desta ação sobre estas bactérias seja ainda mais complexa, tendo em vista a diferentes estratégias de adesão bacteriana que variam de patógeno a patógeno.

5. CONCLUSÃO

A inclusão de 0,4% de cranberry na dieta de cães saudáveis durante 30 dias altera o aspecto e coloração da urina, deixando-a mais clara, sem alterar outros parâmetros urinários, sanguíneos ou a capacidade de adesão de *E.coli* HAMR em diferentes meios de cultura. Ainda, a inclusão de 0,4% de cranberry aumenta a digestibilidade e a energia metabolizável da dieta, sem alterar as características fecais dos cães e diminui a produção de ácido siálico no intestino, indicando melhora na saúde intestinal e melhora na digestibilidade dos nutrientes, no entanto, reduz a palatabilidade da dieta. Ainda são necessárias novas pesquisas para conhecer os benefícios e malefícios deste alimento em quadros clínicos, quais são os componentes responsáveis por melhorar a digestibilidade, por exemplo e qual a quantidade ideal de produtos à base de cranberry devem ser fornecidos aos animais em diversas situações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHUJA S, KAACK MB, ROBERTS JA. Loss of fimbrial adhesion with the addition of Vaccinium macrocarpon to the growth medium of P-fimbriated Escherichia coli. J Urol 159:559–562, 1998.

ALBERTON, G. C. Prevalência e correlação entre infecção urinária, Actinomyces suis, e alguns parâmetros físicos e químicos da urina de porcas gestantes. Curitiba, 1996. 46p. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)** – Universidade Federal do Paraná.

Association of American Feed Control Officials, 2003. Dog and cat nutrient profiles. Official Publications of the **Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA.

AOAC. 1995. **Official methods of analysis**. 16th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

BLATHERWICK, N.R., LOUISA, M.. Studies of urinary acidity II. The increased acidity produced by eating prunes and cranberries, **Chemical Laboratory of the Potter Metabolic Clinic**, 1923.

CARCIOFI, A., TESHIMA, E. , BAZOLLI, R. S., BRUNETTO, M. A. , VASCONCELLOS, R. S., PEREIRA, G. T. , OLIVEIRA, L. D. Qualidade e digestibilidade de alimentos comerciais de diferentes segmentos de mercado para cães adultos, **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.2, p.489-500, abr/jun, 2009.

CATÃO, R.M.R., NUNES, L.E., VIANA, A.P.P., ROCHA, W.R.V., MEDEIROS, A.C.D. Atividade antibacteriana e efeito interativo in vitro de um produto a base de cranberry sobre Escherichia coli, **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**;35(4):723-729, 2014.

CHEN, H.; ZUO, Y.; DENG, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A.**, n. 913, p. 387-395, 2001.

DROLET, R. & DEE, S. A. Diseases of the urinary system. In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L., TAYLOR, D. J. (Eds.). **Diseases of swine**. 8. ed. Ames – USA: Iowa State University, p. 968-970, 1999.

EVANS, J., EVANS, D.G.; YOUNG, L.S.; PITT, J. Hemagglutination typing of Escherichia coli: definition of seen hemagglutination types. J.Clin.Microbiol., v.12, p.235-242, 1981.

FEITOSA, F.L.F. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico: cães, gatos, equinos, ruminantes e silvestres – 2ª edição, **Ed. Roca**. São Paulo, p.407- 2008.

FELLERS, C. R., REDMON, B. C. and PARROTT, E. M.: Effect of cranberries on urinary acidity and blood alkali reserve. **J. Nutr.**, 6 455, 1933

FELIX, A.P., OLIVEIRA, S.G., MAIORKA, A. Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos. In: Vieira, S. Consumo e preferência alimentar de animais domésticos. 1ed. **Phytobiotics Brasil**: Londrina. Cap. 3. p.162-199, 2010

- HOUPT, K.A., *et al.* The role of olfaction in canine food preferences. **Chemical Senses**, v.3, p.281-290, 1978.
- JEPSON, R.G., WILLIAMS, G., CRAIG, J.C. Cranberries for preventing urinary tract infections. **The Cochrane database of systematic reviews**, 2012.
- JOHNSON, J.R., Baochuan, L., Dinderman, M.A, Rubin, R.A, Malanoski, A.P, Ligler, F.S. Impact of cranberry on Escherichia Coli cellular surface characteristics, Biochemical and Biophysical Research Communication, 2008.
- JOURDIAN, G. W. The sialic acids. **The Journal of Biological Chemistry**, 1971
- KITCHELL, R.L. Dogs know what they like. **Friskies Res. Digest**. v.8, p.1-4, 1972.
- LEHNINGER, A.L., *et al.* **Principios de bioquímica**. 2.ed. Sao Paulo: Sarvier, 1995.
- LIU, Y; BLACK, M.A.; CARON, L.; CAMESANO, T.A. Role of cranberry on adhesion of e. Coli, **Biotechnology and Bioengineering**, vol. 93, no. 2, february 5, 2006.
- LIU, Y., AMPARO, M., GALLARDO-MORENO, M., PINZON-ARANGO, P.A., REYNOLDS, Y., RODRIGUEZ, G., CAMESANO, T.A. Cranberry changes the physiocochemical surfasse properties of E.coli and adhesion with uroepithelial cells, *Colloids Surf B Biointerfaces*. Aug 1;65(1):35-42, 2008.
- LOPES, S.T.A., BIONDO, A.W., SANTOS, A.P. Manual de patologia clínica veterinária, Departamento de Clínica de Pequenos Animais – **Universidade Federal de Santa Maria**, 3ª Ed. Rio Grande do Sul: p. 38 - 2007.
- MAZUTTI, K., ALBERTON, G.C., FERREIRA, F.M., LUNARDON, I., ZOTTI, E., WEBER, S. Efeito do extrato de Oxycoco no tratamento de infecções do trato urinário em porcas; **Archives of Veterinary Science**, v 17, n.2, p 1-9, 2012.
- MROZ, Z. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. **Advances in Pork Production**, v.6, p.169-182, 2005.
- National Research Council. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. NRC, Natl. Acad. Press, Washington, DC, USA, 2006.
- NELSON, R.W. & COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais, 5ª edição, **Elsevier**, pg 629, 2015.
- O'MAY, C. & TUFENKJI, N. The swarming motility of pseudomonas aeruginosa is blocked by cranberry proanthocyanidins and other tannin-containing materials. **Am. Soc. Microbiol.**, v.77, n.9, p.3061-3067, 2011.
- OLBY, N.J.; VADEN, S.L.; WILLIAMS, K. ; GRIFFITH, E.H.; HARRIS, T., MARIANI, C.L. ; MUNANA, K.R. ; EARLY, P.J. ; PLATT, S.R.; BOOZER, L. ; GIOVANELLA, C. AND LONGSHORE, R. Cranberry Extract and Bacteriuria in Dogs, **J Vet Intern Med**;31:60–68, 2017.

ROCHA, E.V.H.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T. et al. Utilização de ácidos orgânicos e fitase em dietas para leitões na creche. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, 2008.

SALO, J. et al. Cranberry juice for the prevention of recurrences of urinary tract infections in children: a randomized placebocontrolled trial. **Major Article**, 2011.

SCHÖNER, F.J. Nutritional effects of organic acids. In: Feed manufacturing in the Mediterranean region. Improving safety: From feed to food . **Brufau J.** (ed.), Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2001.

SOBESTIANSKY, J. Infecção urinária em fêmeas em produção. In: SOBESTIANSKY, J. e BARCELLOS, D. Doenças dos Suínos. Goiânia : **Cânone Editorial**. p.127-141, 2007.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

ACHA, P.N. & SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3. ed. **Washington: Organización Panamericana de La Salud**, 2001.

AHUJA. S, KAACK, M.B, ROBERTS, J.A. Loss of fimbrial adhesion with the addition of Vaccinium macrocarpon to the growth medium of P-fimbriated Escherichia coli. **J Urol** 159:559–562, 1998.

ALBERTON, G. C. Prevalência e correlação entre infecção urinária, Actinomyces suis, e alguns parâmetros físicos e químicos da urina de porcas gestantes. Curitiba, 1996. 46p. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)** – Universidade Federal do Paraná.

ANDREATTI FILHO, L. R. Saúde aviária e doenças. São Paulo: **Roca**, vol. 10, p. 112-117, 2007.

ANGATA, T & VARKI, A. Chemical Diversity in the Sialic Acids and Related r-Keto Acids: An Evolutionary Perspective, **Chem. Rev.**, 102, 439–469, 2002.

Association of American Feed Control Officials, 2003. Dog and cat nutrient profiles. Official Publications of the **Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA.

AOAC. 1995. **Official methods of analysis**. 16th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

AVORN, J.; MONANE, M.; GURWITZ, J.H.; GLYNN, R.J.; CHOODNOVSKIY, I.; LIPSITZ, L.A. Reduction of bacteriuria and pyuria after ingestion of cranberry juice. **JAMA** ; 271:751-754, 1994.

BALL, K.R.; RUBIN, J.E.; CHIRINO- TREJO, M.; DOWLING, P.M. Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, **Can. Vet. J.**, v. 49, p. 985–90, 2008.

BARCELOS, A. S. Avaliação macroscópica, histopatológica e bacteriológica de fígados de frangos (Gallus gallus) condenados no abate pela inspeção sanitária. 83 f. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacillosis In: SAIF W. M. **Diseases of poultry**. (11ª ed.). Iowa, p. 138-144, 2003.

BARSANTI, J. A. Genitourinary infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. St Louis, Missouri: Saunders/Elsevier, p.935-961, 2006.

BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. Doenças das aves. Campinas: **FACTA**, p.455-469. 2009.

BLATHERWICK, N.R., LOUISA, M.. Studies of urinary acidity II.The increased acidity produced by eating prunes and cranberries, **Chemical Laboratory of the Potter Metabolic Clinic**, 1923.

BROW, P.N.; SHIPLEY, P.R. Determination of Anthocyanins in Cranberry Fruit and Cranberry Fruit products by High Performance Liquid chromatography with Ultraviolet Detection: Single-Laboratory Validation. **JAOAC**, v.94, n.2, p.459-466, 2011.

BUSH, B.M. A review of the etiology and consequences of urinary tract infections in the dog, **British Veterinary Journal**, v. 132, n. 6, p.632, 1976.

CAMPOS, T. A. Caracterização clonal e biológica de linhagens de *Escherichia coli* de origem aviária, 125 f. Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

CARCIOFI, A., TESHIMA, E. , BAZOLLI, R. S., BRUNETTO, M. A. , VASCONCELLOS, R. S., PEREIRA, G. T. , OLIVEIRA, L. D. Qualidade e digestibilidade de alimentos comerciais de diferentes segmentos de mercado para cães adultos, **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.2, p.489-500, abr/jun, 2009.

CARVALHAL, G.F., ROCHA, L.C.A., MONTI, P.R. Urocultura e exame comum de urina: considerações sobre sua coleta e interpretação, **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, 50 (1): 59-62, jan.-mar. 2006.

CARVALHO, V.M.; SPINOLA, T.; TAVOLARI, F; IRINO, K.; OLIVEIRA, R.M., RAMOS, M.C.C., Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência aos antimicrobianos; **Pesq. Vet. Bras.** 34(1):62-70, janeiro 2014.

CATÃO, R.M.R., NUNES, L.E., VIANA, A.P.P., ROCHA, W.R.V., MEDEIROS, A.C.D. Atividade antibacteriana e efeito interativo in vitro de um produto a base de cranberry sobre *Escherichia coli*, **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**;35(4):723-729, 2014.

CHEN, H.; ZUO, Y.; DENG, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A.**, n. 913, p. 387-395, 2001.

CLEGG, S. & GERLACH, G.F. Enterobacterial Fimbriae. **J Bacteriol**, Washington, v.169, n.3, p.934-938, 1987.

DÉZIEL, B.A., PATEL, K., NETO, C., GOTTSCHALL-PASS, K., HURTA, R.A. Proanthocyanidins from the American Cranberry(*Vaccinium macrocarpon*) inhibit matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 activity in human prostate cancer cells via alterations in multiple cellular signaling pathways, **J.Cell.Biochem**, 2010.

DE-LEÓN-JAÉN,S.C.,OVADÍA-ROSENFELD, L.,VASQUEZ-DELGADO,L.R.,FAINSOD-ARONOWITZ,T. El arándano y su aplicación en urología, **Rev Mex Urol**;69(3):104-107, 2009.

DOUGHARI, J.H, EL-MAHMOOD, A.M, TYOYINA, I. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L). **Afr J Pharmacol.** 2(1):07- 13, 2008.

DROLET, R. & DEE, S. A. Diseases of the urinary system. In: STRAW, B. E.;D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L., TAYLOR, D. J. (Eds.). **Diseases of swine**. 8. ed. Ames – USA: Iowa State University, p. 968-970, 1999.

EVANS, J., EVANS, D.G.; YOUNG, L.S.;PITT,J.Hemagglutination typing of *Escherichia coli*: definition of seen hemagglutinations types. *J.Clin.Microbiol.*,v.12,p.235-242, 1981.

FEITOSA, F.L.F. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico: cães, gatos, equinos, ruminantes e silvestres – 2ª edição, **Ed. Roca**. São Paulo, p.407- 2008.

FELLERS, C. R., REDMON, B. C. and PARROTT, E. M.: Effect of cranberries on urinary acidity and blood alkali reserve. **J. Nutr.**, 6 455, 1933

FELIX, A.P., OLIVEIRA, S.G., MAIORKA, A. Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos. In: Vieira, S. Consumo e preferência alimentar de animais domesticos. 1ed. **Phytobiotics Brasil**: Londrina. Cap. 3. p.162-199, 2010

FERREIRA, A. J. P. & KNÖBL, T. Enfermidades bacterianas. In: JÚNIOR BERCHIERI, A.; SILVA, NEPOMUCENO, E.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. Doenças das aves. **Campinas: Facta**,. cap.4, p. 457-474, 2009.

FRANÇA, A.C.Y.R.; COUTINHO, V.G.; SPEXOTO, M.C. O Consumo do Cranberry no Tratamento de Doenças Inflamatórias, **Ensaios Cienc. Biol. Agrar. Saúde**, v. 18, n. 1, p. 47-53, 2014.

FONSECA, L.L.; OLIVEIRA, P.B. A planta de mirtilo: morfologia e fisiologia. **Divulgação AGRO**; 556(2): 1-26, 2007.

FURINI, A.A.C.; SILVA, B.T.O.S.; CHIAPARINI, J.; RAMOS, M.P.S.C.M.; MARTINS, E.A.; ATIQUE, T.S.C.; NETTO, H.A.; NARDO, C.D.D.N.; CASTRO, K.F. Análise epidemiológica, identificação e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos isolados de cães com infecção do trato urinário, **Acta Veterinária Brasília**, v.7, n.4, p.288-293, 2013.

GAASTRA, W.; DE GRAAF, F.K. Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escheichia coli* strains. **Microbiol Rev**, Washington, v.46, n.2, p.129-161,1982.

GALASSI, G.; MALAGUTTI, L.; COLOMBINI, S.; RAPETTI, L.; CROVETTO, G.M. Effects of benzoic acid on nitrogen, phosphorus and energy balance and on ammonia emission from slurries in the heavy pig. *Italian Journal of Animal Science*, v.10, n.3, 2011.

GHELER, T.T.; ARAÚJO, L.F.; SILVA, C.C.; GOMES, G.A.; PRATA, M.F.; GOMIDE, C.A. Uso de ácido benzoico na dieta de leitões, **R. Bras. Zootec.** v.38, n.11, p.2182-2187, 2009.

GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. **Canada: Saunders/Elsevier**, 3.ed. 2006.

GONDIM, B.L.C., VIEIRA, T.I., CUNHA DA, SANTIAGO, B.M., VALENÇA, A.M.G. Atividade Antimicrobiana de Produtos Naturais Frente a Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr.**;11(1):123-7, 2011.

HOUPT, K.A., *et al.* The role of olfaction in canine food preferences. **Chemical Senses**, v.3, p.281-290, 1978.

- HOWELL, A.B., VORSA, N., MARDEROSIAN, A.D., FOO, L.Y. Inhibition of the adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial-cell surfaces by proanthocyanidin extracts from cranberries. **New England Journal of Medicine.**; 15(339):1085, 1998.
- JANG, S.S.; LING, G.V.; YAMAMAMOTO, R. et al. Mycoplasma as a cause of canine urinary tract infection. **JAVMA**, v. 185, n. 1, p.45 – 47, 1984.
- JEPSON, R.G., WILLIAMS, G., CRAIG, J.C. Cranberries for preventing urinary tract infections. **The Cochrane database of systematic reviews**, 2012.
- JEURISSEN, S.H.M.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J.D.; MROZ, Z.; REBEL, J.M.J.; HUURNE, A.A.H.M. Parameters and techniques health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. **Curr. Issues Intestinal Microbiology**, Netherlands, v.3, n.1, p.1-14, 2002.
- JIN, Y. & LIN, D. Fungal urinary tract infections in the dog and cat: A retrospective study (2001-2004). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, p. 373-381, 2005.
- JOHNSON, J.R. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v.4, n.1, p.80-128, 1991.
- JOHNSON, J.R., Baochuan, L., Dinderman, M.A, Rubin, R.A, Malanoski, A.P, Ligler, F.S. Impact of cranberry on *Escherichia Coli* cellular surface characteristics, Biochemical and Biophysical Research Communication, 2008.
- JOURDIAN, G. W. The sialic acids. **The Journal of Biological Chemistry**, 1971.
- KAPER, J.B; NATARO, J.P., MOBLEY, H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat. Rev. Microbiol.** V2, p.13, 0 123- 140, 2004.
- KEARNS, D. B. & LOSICK, R. Swarming motility in undomesticated *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*. **Cambridge**, v.49, p. 581–590, 2003.
- KITCHELL, R.L. Dogs know what they like. **Friskies Res. Digest**. v.8, p.1-4, 1972.
- KLEMM, P.; SCHEMBRI, M. A. Bacterial adhesins: function and structure. *International Journal of Medical Microbiology*. v. 290, p. 27–35, 2000.
- KOLLER, F.L.; BARCELLOS, D.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F. Prevenção e Tratamento da Infecção Urinária em Matrizes Suínas. Porto Alegre, UFRGS. Setor De Suínos, 2006.
- KOUTSOS, E. A. & ARIAS, V. J. Intestinal Ecology: Interactions Among the Gastrointestinal Tract, Nutrition, and the Microflora, **J. Appl. Poult. Res.** 15:161–173, 2006.
- KORHONEN, T.K et al. Tissue interactions of *Escherichia coli* adhesins. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 54, p. 411-420, 1988.

KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. **Fems Microbiology reviews**, v. 24, n. 1, p. 107-117, 2000.

LATHAM, R.H.; STAMM, W.E. Role of fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections in adult women: correlation with localization studies. **J. Infect. Dis.**, v.149, n.6, p.835-840, 1984.

LANGONI, H.; SILVA, A.V.; BALDINI, S.; HOMEM, V.S.F.; LISTONI, F.J.P.; CAMARGO, M.J.B. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana na infecção do trato urinário em cães na região de Botucatu – SP, **Semina: Ci. Ag., Londrina**, v.17, n.1, p. 25- 29, mar 1996.

LEHNINGER, A.L., et al. **Principios de bioquímica**. 2.ed. Sao Paulo: Sarvier, 1995.

LIU, Y; BLACK, M.A.; CARON, L.; CAMESANO, T.A. Role of cranberry on adhesion of *E. coli*, **Biotechnology and Bioengineering**, vol. 93, no. 2, february 5, 2006.

LIU, Y., AMPARO, M., GALLARDO-MORENO, M., PINZON-ARANGO, P.A., REYNOLDS, Y., RODRIGUEZ, G., CAMESANO, T.A. Cranberry changes the physicochemical surface properties of *E. coli* and adhesion with uroepithelial cells, *Colloids Surf B Biointerfaces*. Aug 1;65(1):35-42, 2008.

LOPES, S.T.A., BIONDO, A.W., SANTOS, A.P. Manual de patologia clínica veterinária, Departamento de Clínica de Pequenos Animais – **Universidade Federal de Santa Maria**, 3ª Ed. Rio Grande do Sul: p. 38 - 2007.

MARQUES, M.A. Caracterização de fatores de virulência e do perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC) oriunda da comunidade de São Luís-MA, Dissertação apresentada ao **Mestrado** em Biologia Parasitária do Centro Universitário do Maranhão (Uniceuma) para obtenção de Título de Mestre em Biologia Parasitária, 2011.

MAZUTTI, K., ALBERTON, G.C., FERREIRA, F.M., LUNARDON, I., ZOTTI, E., WEBER, S., Efeito do extrato de Oxicoco no tratamento de infecções do trato urinário em porcas; **Archives of Veterinary Science**, v 17, n.2, p 1-9, 2012.

MCMURDO, M.E.T., ARGO, I., PHILLIPS, G., DALY, F., DAVEY, P. Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. **J Antimicrob Chemother.**; 63(2):389- 395.DOI: 10.1093/jac/dkn489, 2009.

MENDES, L.P.M., MACIEL, K.M., VIEIRA, A.B.R., MENDONÇA, L.C.V., SILVA, M.F., ROLIM NETO, P.J., BARBOSA, W.L.R., VIEIRA, J.M.S. Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**;32(1):121-5, 2011.

MERINO, S.; SHAW, J. G.; TOMÁS, J. M. Bacterial lateral flagella: an inducible flagella system. **FEMS Microbiology Letters**. Barcelona, v. 263, p.127–135, out. 2006.

MORRIS, J.A. *Escherichia coli* fimbrial adhesins. **Pig News and Information**, v.4, n.1, p.19-21, 1983.

MROZ, Z. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. **Advances in Pork Production**, v.6, p.169-182, 2005.

MUNDY, L.M.; SAHM, D.F.; GILMORE, M.S. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v.13, p. 513-522, 2000.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. **Braz. J. Microbiol.**; 31(4):247-56, 2000.

NARAYANAN, B.A., GEOFFREY, O., WILLINGHAM, C.M., RE, G.G., NIXON, D.W. P53 E P21 expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis. **Cancer Lett**, 1999.

NARAYANAN, B.A., RE, G.G. IGF II down regulation associated cell cycle arrest in colon cancer cells exposed to phenolic antioxidant ellagic acid. **Anticancer Res**. 2001.

NARAYANAN, B.A., NARAYANAN, N.K., STONER, G.D., BULLOCK, B.P. Interactive gene expression pattern in prostate cancer cells exposed to phenolic antioxidants. **Life Sciences**, 2002.

National Research Council. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. NRC, Natl. Acad. Press, Washington, DC, USA, 2006.

NELSON, R.W.; FELDMAN, E.C. Pyometra. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.16, n.3, p.561-576, 1986.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Small animal internal medicine. **St. Louis: Mosby**, 3.ed. 2003.

NELSON, R.W. & COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais, 5ª edição, **Elsevier**, pg 629, 2015.

OLIVEIRA, W.F. et al. Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras fecais de frangos de corte procedentes de explorações industriais do Estado do Ceará, Brasil. **RPCV** 99 (552) 211-214, 2004.

OLSEN, A., ARNQVIST, A., HAMMAR, M. and NORMARK, S. Environmental regulation of curli production in *Escherichia coli*. **Infect. Agents**. Dist. 2:272-274, 1993.

O'MAY, C. & TUFENKJI, N. The swarming motility of *Pseudomonas aeruginosa* is blocked by cranberry proanthocyanidins and other tannin-containing materials. **Am. Soc. Microbiol.**, v.77, n.9, p.3061-3067, 2011.

OLBY, N.J.; VADEN, S.L.; WILLIAMS, K. ; GRIFFITH, E.H.; HARRIS, T., MARIANI, C.L. ; MUNANA, K.R. ; EARLY, P.J. ; PLATT, S.R.; BOOZER, L. ; GIOVANELLA, C. AND LONGSHORE, R. Cranberry Extract and Bacteriuria in Dogs, **J Vet Intern Med**; 31:60–68, 2017.

OSUGUI, L. Pesquisa e caracterização de amostras de ExPEC (“extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*”) isoladas de infecções do trato urinário de cães e gatos, Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-graduação em Microbiologia, **Universidade de São Paulo**, 2008.

PRESSLER, B. M.; VADEN, S. L.; LANE, I. F.; COWGILL, L. D.; DYE, J. A. *Candida* spp. Urinary tract infections in 13 dogs and seven cats: Predisposing factors, treatment and outcome. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 39, p. 263- 270, 2003.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas. 1ª ed. Porto Alegre: **editora Artmed** 512p, 2005.

RAZ R, CHAZAN B, DAN M. Cranberry juice and urinary tract infection. **Clin. Infect Dis.** 2004; 38(10):1413–9. Epub 2004 Apr 26.

RECHE, A.J. The orbifloxacin in the treatment of lower urinary tract infections in cats. **Ciência Rural**, v 35, n. 6, p.1325-1330, 2005.

ROCHA, S.L.S. Detecção de fatores de virulência de amostras de *Escherichia coli* isoladas de granjas avícolas do RS através do MultiplexPCR. **Dissertação de Mestrado**. 68 f. Universidade do Rio Grande do Sul, 2008.

ROSSI, R., PORTA, S., CANOVI, B. Overview on cranberry and urinary tract infections in females. **J Clin Gastroenterol.**;44:61-2, 2010.

SAIDENBERG, A. B. S. Detecção de fatores de virulência de *Escherichia coli* isoladas em psitacídeos com diferentes manifestações clínicas. 76 f. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo., 2008.

SALO, J. et al. Cranberry juice for the prevention of recurrences of urinary tract infections in children: a randomized placebocontrolled trial. **Major Article**, 2011.

SCHELZ, Z.; MOLNAR, J.; HOHMANN, J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. **Fitoterapia**, vol. 77, Junho, pgs 279–285, 2006.

SCHEMBRI, M.A et al. Differential Expression of the *Escherichia coli* autoaggregation factor antigen 43. **J. Bacteriol.**,v 185, p 2236-2242, 2003.

SCHIDFAR, F. The effects of cranberry juice on serum glucose, apoB, apoA-I, Lp(a), and Paraoxonase-1 activity in type 2 diabetic male patients. **J. Res. Med. Sci.**, v.17, n.4, p.355-360, 2012.

SCHÖNER, F.J. Nutritional effects of organic acids. In: Feed manufacturing in the Mediterranean region. Improving safety: From feed to food . **Brufau J.** (ed.), Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2001.

SEGUIN, M.A.; VADEN, S.L.; ALTIER, C.; STONE, E. & LEVINE, J.F. Persistent urinary tract infections and reinfections in 100 dogs (1989-1999). **J. Intern. Med.** 17:622-631, 2003.

SENIOR, D. Urinary tract infection – bacterial. In: BARTGES, J.; POLZIN, D.J. **Nephrology and Urology of Small Animals**, Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, p.710-716, 2011.

SHARON, N.; LIS, H. Carbohydrates in cell recognition. **SciAm**, v.1, p.82-89, 1993.

SILVA JR. A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolipídios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.238-245, 2009.

SIQUEIRA, A. K. Fatores de virulência de *Escherichia coli* isoladas de infecção do trato urinário, piometra e fezes de cães, **dissertação (Mestrado)** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP, 2006.

SOBESTIANSKY, J. Infecção urinária em fêmeas em produção. In: SOBESTIANSKY, J. e BARCELLOS, D. Doenças dos Suínos. Goiânia: **Cânone Editorial**, p.127-141, 2007.

TAGLIANI, M.M. Efeitos comparativos de diferentes géis à base de Cranberry e Proantocianidina sobre a dentina submetida à erosão: estudo in vitro. **Tese (Doutorado)** – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2015.

TENG, C.H. et al. *Escherichia coli* K1 RS218 Interacts with human brain microvascular endothelial cells via type 1 fimbria bacteria in the fimbriated state. **Infect. Immun.**, v.73, p. 2923-2931, 2005.

VASCONCELLOS, A.L. Diagnóstico de cistite em cães – contribuição dos métodos de avaliação, **Dissertação** apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção de título de Mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica), 2012.

WEESE J.S., BLONDEAU J.M., BOOTHE D., BREITSCHWERDT E.B., GUARDABASSI L., HILLIER A et al. 2011. Antimicrobial Use Guidelines for Treatment of Urinary Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines. **Vet Med Int**, v., p.1-9, 2011.

WINSTON, D.; GRAFF, A.; BRINCKMANN, J.; LANGER, R.; TURNER, A.; REICH, E. et al. Cranberry Fruit: *Vaccinium macrocarpon* Aiton. **American Herbal Pharmacopoeia**, 2002.

WU, V.C., QIU, X., BUSHWAY, A., HARPER, L. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. **LWT - Food Sci Technol.**,41:1834–41, 2008.

ZAGO, J.A.A.; USHIMARA, P.I.; BARBOSA, L.N.; JUNIOR, A.F. Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**: 828-833, Out./Dez. 2009.

